

МЕХАНИЗМЫ ВИРУЛЕНТНОСТИ БАКТЕРИИ *Mycobacterium abscessus* И ЕЁ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ИММУННОЙ СИСТЕМОЙ МАКРООРГАНИЗМА

©2025 г. Е. В. ЗАХАРЬЕВА, Б. А. МАРТИНИ, Е. Г. САЛИНА

*Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва*

I. Введение. II. Морфологическая гетерогенность *M. abscessus*. III. Регуляторы вирулентности. IV. Факторы вирулентности. V. Роль экзосом в модуляции иммунного ответа при инфекции *M. abscessus*. VI. Внутриклеточное персистирование *M. abscessus*. VII. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Род *Mycobacterium* включает в себя более 200 видов, которые могут быть классифицированы по различным признакам [1]. Чаще всего их подразделяют на две большие группы: микобактерии туберкулезного комплекса (МБТК), то есть вызывающие туберкулез у человека и животных, куда входят следующие виды: *Mycobacterium tuberculosis* (палочка Коха) – наиболее опасный для человека вид, а также *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canetti*, *M. microti*, *M. caprae* и *M. pinnipedii*, и все остальные микобактерии, называемые нетуберкулезными (НТМБ) [1, 2]. Отдельного упоминания заслуживает возбудитель проказы *Mycobacterium leprae*, который, вследствие эволюционной редукции генома, генетически и фенотипически значительно отличается от всех других видов микобактерий, и поэтому часто представлен в отдельной генетической кладе [3].

МБТК и *M. leprae* являются патогенными медленнорастущими микобактериями (Рис. 1), а НТМБ в основном представляют собой условно-патогенные и сапрофитные микобактерии, которые могут быть как быстрорастущими, так и медленнорастущими. НТМБ широко распространены в таких экологических нишах, как почва, источники природной питьевой воды, домашняя пыль, а также обнаруживаются в душевых системах в виде биопленок, что способствует высокой частоте их контактов с человеком

Список сокращений: МБТК – микобактерии туберкулезного комплекса; НТМБ – нетуберкулезные микобактерии; ГЭР – гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь; ГПЛ – гликопептидолипид; ФГЛ – фенольный гликолипид; ДМФЦ – димикоцерозат фтиоцереола; 6-dTal – 6-дезоксид- α -L-галактоза; Rha – α -L-рамноза; МР – маннозосвязывающий рецептор; ФНО- α – фактор некроза опухоли альфа; НАБ – нуклеоид-ассоциированные белки; АСК-транспортер – АТФ-связывающий каскадный транспортер; МФИ – маннозиды фосфатидилинозитола; ЛП – липопротеины; ТПР2 – толл-подобный рецептор 2; АФК – активные формы кислорода; ГЦ – гуанин-цитозин; ИФН- γ – интерферон гамма; ГИФ-1 – фактор, индуцируемый гипоксией-1.

Адрес для корреспонденции: e-mail – elenasalina@yandex.ru

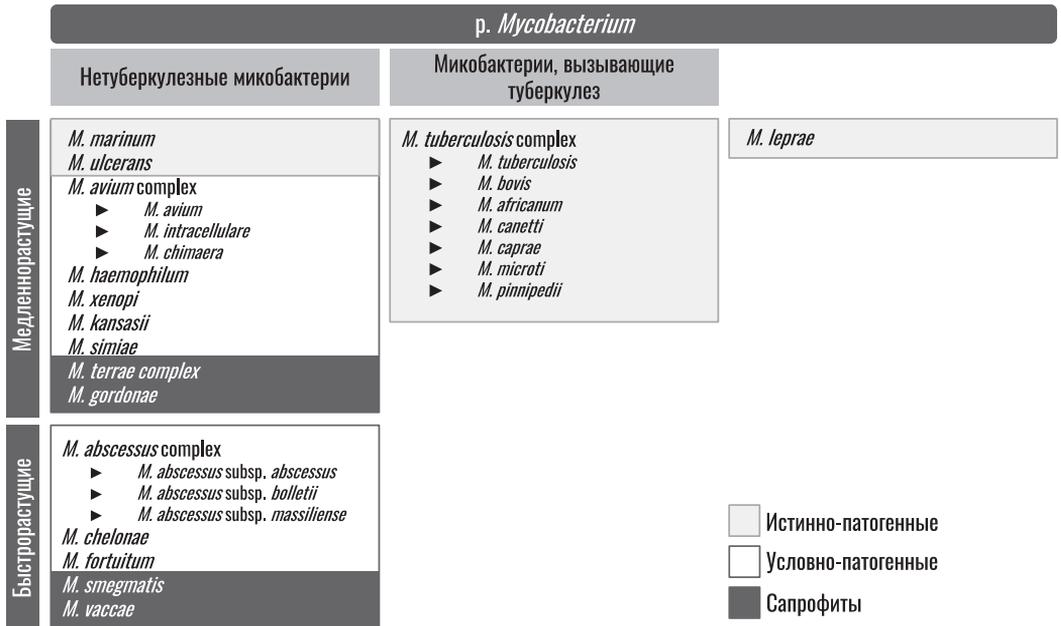


Рис. 1. Видовая классификация бактерий рода *Mycobacterium*.

[4, 5]. Долгое время считалось, что все НТМБ не несут никакой опасности для здоровья человека, но в последние десятилетия стало очевидным, что некоторые из них способны вызывать тяжелые инфекции, трудно поддающиеся лечению. Трудности терапии инфекций, вызываемых НТМБ, связаны в первую очередь с тем, что для них характерна естественная устойчивость ко многим антибиотикам, что способствует их распространению. Так, в штате Орегон, США, был выявлен существенный рост легочных заболеваний, вызванных НТМБ, с 4,8 случаев на 100 000 человек в 2007 году до 5,6 на 100 000 в 2012 году, причем среди заболевших большую долю составляли люди старше 60 лет [6]. В Канаде с 1998 по 2010 гг. также наблюдался рост случаев заражения НТМБ с 29,3 до 41,3 случаев на 100 000 человек [7]. Среди причин роста заболеваемости называют также увеличение среднего возраста населения и различные предрасположенности, например, хронические заболевания легких. Также существует предположение, что рост заболеваемости инфекциями, вызываемыми НТМБ, может быть связан со снижением уровня заболеваемости туберкулезом [8].

В настоящее время среди НТМБ выделяют два патогенных вида: *M. marinum* и *M. ulcerans*, которые относятся к группе медленнорастущих микобактерий. *M. marinum* вызывает у рыб заболевание, подобное туберкулезу, однако при контакте с загрязнённой водной средой и в случае наличия повреждений кожных покровов может наблюдаться инфекция кожи и слизистых оболочек и у человека. *M. ulcerans* также встречается в различных водных средах и может инфицировать людей и некоторых животных, вызывая стойкие открытые раны – язвы Бурули. Условно-патогенные НТМБ представлены как медленнорастущими видами, например, *M. kansasii*, *M. xenopi* и микобактериями комп-

лекса *M. avium*, так и быстрорастущими – *M. fortuitum*, бактериями комплекса *M. abscessus*, и др. Комплекс *M. abscessus* включает в себя три подвида: *M. abscessus* subsp. *abscessus*; *M. abscessus* subsp. *bolletii* и *M. abscessus* subsp. *massiliense*, чаще именуемые *M. abscessus*, *M. bolletii* и *M. massiliense*, соответственно [9]. Несмотря на их принадлежность к условно-патогенным микобактериям, представители комплекса *M. abscessus* вызывают у людей тяжелые инфекции, поражая, прежде всего, дыхательные пути, слизистые оболочки и кожные покровы, и в настоящее время рассматриваются как наиболее опасные из условно-патогенных НТМБ [10]. В первую очередь, это связано с их предрасположенностью к длительному выживанию в окружающей среде вне человеческого организма, что способствует передаче инфекции. Полагают, что бактерии комплекса *M. abscessus* способны также к длительному внутриклеточному выживанию внутри амёб, хотя этот факт на данный момент считается не доказанным [11–13]. Отдельно следует упомянуть их крайне существенную устойчивость к антибиотикам различных классов, как естественную, так и приобретенную, что сильно затрудняет ход лечения инфекции, увеличивая длительность антибиотикотерапии [14], при этом успех излечения от инфекции составляет не более 30% [15].

В группу риска инфицирования *M. abscessus* в основном входят люди с различными легочными патологиями, в первую очередь, муковисцидозом, бронхоэктазами, хронической обструктивной болезнью легких, ранее перенесенным туберкулезом, а также гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (ГЭР) и различными иммуносупрессивными заболеваниями [13, 16–18]. Муковисцидоз является наследственным заболеванием, при котором происходит нарушение работы желез внешней секреции, что приводит к закупорке мелких дыхательных путей и обеспечивает благоприятные условия для развития легочных инфекций; по разным оценкам, от инфекции *M. abscessus* в настоящее время страдают более 20% больных муковисцидозом [19]. В случае ГЭР инфицирование легких происходит за счет желудочной микроаспирации, содержащей микобактерии, которые ранее могли попасть в организм человека, например, с зараженной водой [17]. Помимо инфекции дыхательных путей, *M. abscessus* также вызывает инфекции кожных покровов, слизистых оболочек и мягких тканей после контакта поврежденной кожи с зараженной почвой, водой или хирургическими инструментами [19, 20]. Случаи внутрибольничного инфицирования *M. abscessus* также нередки [21]. Среди способов заражения присутствует инфицирование в процессе трансплантации органов. Так, молодой человек с муковисцидозом успешно перенес трансплантацию легких, сопровождающуюся иммуносупрессивной терапией, а затем, после месяца антибиотикотерапии, скончался от стремительно развившейся инфекции *M. abscessus* [22].

Отсутствие в настоящее время эффективных лекарственных средств для лечения инфекций, вызываемых *M. abscessus*, и вакцин, способствующих контролю их распространения, а также недостаточная изученность арсенала разнообразных стратегий, которые *M. abscessus* использует для уклонения от иммунной системы макроорганизма, определяют необходимость всестороннего исследования данного инфекционного агента. Все больше исследователей признают *M. abscessus* и некоторые другие НТМБ истинными патогенами, распространенность которых в мире неуклонно растет [1, 23, 24]. Однако, понимание механизмов вирулентности НТМБ все ещё находится на начальном уровне, поскольку на их изучение выделяется гораздо меньше ресурсов, чем на исследования *M. tuberculosis* [25]. Хотя некоторые факторы вирулентности являются общими для нескольких видов микобактерий, включая *M. tuberculosis*, у НТМБ существ-

вуют и видоспецифичные факторы, среди которых продукция разнообразных молекулярных структур (в первую очередь, липидов) на поверхности клеточной стенки микобактерий, которые участвуют во взаимодействии «патоген-хозяин», секреция белков и разнообразных протективных агентов, и проч. Изучение механизмов вирулентности необходимо для разработки новых методов лечения и контроля инфекций, вызываемых *M. abscessus*, в частности, получения аттенуированных штаммов для создания вакцин и выявления перспективных мишеней для лекарственных препаратов.

II. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ *M. ABSCESSUS*

M. abscessus характеризуется значительной фенотипической гетерогенностью, что является важным фактором вирулентности и выражается наличием двух морфотипов, наблюдаемых при росте бактерий на плотных питательных средах: гладкого S (от *англ.* smooth) и шероховатого R (от *англ.* rough). В отличие от *M. tuberculosis*, для многих НТМБ характерны различия в морфотипах колоний. У *M. abscessus* колонии гладкого морфотипа имеют правильную круглую форму и выглядят блестящими, тогда как колонии шероховатого морфотипа отличаются неправильной формой и выглядят сухими. Морфология колоний определяет патофизиологические особенности *M. abscessus* и играет принципиальную роль во взаимодействии с хозяином и окружающей средой, регулируя способность микобактерий к образованию биопленок, особенности взаимодействия с иммунной системой макроорганизма и стратегию внутриклеточного выживания, которая, в конечном итоге, и определяет характер проявления заболевания и исход инфекции [26, 27]. Шероховатый R-морфотип является более вирулентным по сравнению с гладким S-морфотипом. Пациенты обычно инфицируются *M. abscessus* гладкого морфотипа, который характеризуется наличием на поверхности клеточной стенки гликопептидолипида (ГПЛ), встроенного в слой миколовых кислот. Переход от гладкого к шероховатому морфотипу у НТМБ обычно происходит на поздних стадиях инфекции [28, 29].

Структурно ГПЛ представляет собой различные 3-гидрокси- и 3-метоксизамещенные жирные кислоты с длиной углеродного скелета C_{28-30} , связанные амидной связью с трипептидом D-Phe-D-*алло*-Thr-D-Ala, который, в свою очередь, соединен с аминокислотой L-аланином и сахарами 6-дезоксид- α -L-галактозой (6-dGal) и α -L-рамнозой (Rha), прикрепленными к остаткам треонина и аланинола, соответственно [1]. В клетках *M. abscessus* могут синтезироваться в равных количествах два вида ГПЛ, незначительно отличающихся по своему составу: ГПЛ-3 и ГПЛ-2а. ГПЛ-3 содержит в своем составе два остатка Rha, а ГПЛ-2а – один [30]. Гены *M. abscessus*, ответственные за синтез, модификацию и транспорт ГПЛ на поверхность клеток располагаются в локусе *gpl* [1]. Гены *mps1* и *mps2* кодируют нерибосомальные пептид-синтазы, необходимые для синтеза пептидной части ГПЛ (трипептид-аминоспирта) [31]. Гены *mmpS4*, *mmpL4a*, *mmpL4b* и *gap* кодируют белки, необходимые для транспорта ГПЛ через цитоплазматическую мембрану. Интегральные белки MmpL4a и MmpL4b переносят ГПЛ с помощью энергии, получаемой от транспорта протонов внутрь клетки. Gap также является интегральным транспортным белком, чей механизм действия еще предстоит выяснить [32]. Белок MmpS4 выполняет функцию каркаса при образовании мембранного транспортного комплекса и не является необходимым для переноса ГПЛ на поверхность клетки. Экспериментально было обнаружено, что в мутантах, лишенных белка MmpS4, на поверхности клеток все же присутствовало небольшое количество

ГПЛ, в то время как при наличии мутаций в генах *mmpL4a*, *mmpL4b*, *gap*, *mps1* и *mps2* ГПЛ на поверхности клеточной стенки полностью отсутствовал, что вызывало переход из гладкого морфотипа в шероховатый [29, 33]. В настоящий момент активно продолжаются исследования по выявлению иных механизмов, вызывающих переход *M. abscessus* из слабовирулентного S-морфотипа в гипервирулентный R-морфотип. Так, недавно установлено, что мутации в генах *gtf1*, *gtf2* и *gtf3*, кодирующих гликозилтрансферазы, также могут поспособствовать утрате гладкого морфотипа клетками *M. abscessus* [34]. Гликозилтрансфераза Gtf1 отвечает за перенос 6-dTal на треонин пептидного ядра ГПЛ. Gtf2 связывает первый остаток Rha с аланином, а Gtf3 присоединяет второй остаток Rha, образуя тем самым молекулу ГПЛ-3. При наличии второго остатка Rha возникают две дополнительные гидроксильные группы, которые, в свою очередь, связываются с маннозосвязывающим рецептором (MR) макрофагов, причем экваториальное расположение гидроксильных групп в C₃ и C₄ в ГПЛ-3 имеет конфигурационное преимущество над аксиальным положением гидроксильной группы в C₂ при соединении с углеводсвязывающими доменами MR [34]. Рецептор MR представляет собой мономерный трансмембранный белок, обладающий свойствами лектинов С-типа, а именно способностью к узнаванию остатков маннозы, фукозы и N-ацетилглюкозамина [35]. Таким образом, было выяснено, что ГПЛ-3 на поверхности клеток содействует более активному фагоцитозу, опосредованному распознаванием микобактерий *M. abscessus* макрофагальным рецептором MR, нежели ГПЛ-2а. Также при инфицировании эмбрионов рыбок данио мутантными штаммами Δ *gtf1* и Δ *gtf2* был сделан вывод, что отсутствие 6-dTal или первого остатка Rha в молекулах ГПЛ приводит к образованию стабильного R-морфотипа без полной утраты ГПЛ [34].

Мысль о том, что ацетилирование углеводов остатков ГПЛ также может вносить свой вклад в изменение морфотипа, привела к изучению роли ацетилтрансфераз в вирулентности *M. abscessus*. Было обнаружено, что при делеции генов *atf1* и *atf2*, входящих в локус *gpl* и кодирующих O-ацетилтрансферазы, ацетилирование ГПЛ продолжалось за счет ацетилтрансфераз, кодируемых генами *MAB_1725c* и *MAB_3448*, расположенными вне локуса *gpl*. Мутанты с делецией *MAB_1725c* и *MAB_3448* по отдельности или одновременно не показали изменений в профиле ацетилирования ГПЛ в отличие от мутантов с одновременной делецией генов *atf1*, *atf2* и *MAB_1725c*, которые частично потеряли способность к нормальному ацетилированию гликопептидолипида. Делеция по всем четырем генам вызвала полную неспособность к ацетилированию ГПЛ, но изменения морфотипа при этом не последовало, так как вместо ацетилирования, в качестве компенсации, начал преобладать процесс метилирования [30].

В работе Павлика и соавт. сравнительные исследования различных изогенных пар гладкого и шероховатого морфотипа выявили несколько генетических изменений, таких как вставки, делеции и однонуклеотидные полиморфизмы в кластере *gpl*, что объясняет, почему переход от гладкого морфотипа к грубому необратим [36]. Так, в шероховатом варианте были обнаружены однонуклеотидные делеции в гене *mmpL4b* и инсерции в гене *mps1*. Кроме того, при секвенировании РНК было выявлено подавление транскрипции генов *mps1*, *mps2* и *gap*, вызванное инсерцией на 5'-конце *mps1* [36].

Морфология колоний существенно влияет на поверхностные свойства и патофизиологические особенности *M. abscessus*, и, как следствие, играет важнейшую роль во взаимодействии микобактерий с окружающей средой и клетками иммунной системы хозяина, а также в регуляции образования биопленок и стратегии внутриклеточного

выживания, что, в конечном итоге, определяет клиническую картину инфекции [26, 27]. При попадании *M. abscessus* в организм человека близлежащие иммунные клетки, такие как макрофаги и нейтрофилы, рекрутируются к месту инфекции и фагоцитируют микобактерии. Врожденный иммунитет организма-хозяина обычно обеспечивает сдерживание большинства НТМБ, однако *M. abscessus*, как и другие патогенные микобактерии, например, *M. tuberculosis*, может противостоять фагоцитозу, индуцируя выработку провоспалительных цитокинов, в первую очередь, фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α), который привлекает соседние иммунные клетки, приводя к образованию гранулем [37, 38]. Гранулема является отличительным признаком микобактериальной инфекции и представляет собой динамическую систему, в которой осуществляется взаимодействие между клетками хозяина и возбудителем инфекции. В созревании гранулем важную роль играет адаптивный иммунитет, который реализуется путем рекрутирования В- и Т-клеток к периферии гранулемы [39]. При переходе от гладкого морфотипа к шероховатому может наблюдаться образование массивных внеклеточных бактериальных структур – кордов, которые, благодаря своим крупным размерам, не могут быть эффективно фагоцитированы [1].

Большинство исследований сосредоточено на анализе последствий полной утраты ГПЛ для вирулентности и патогенности *M. abscessus*, обеспечивая тем самым лишь частичное представление о его биологических свойствах. Весьма вероятно, что патоген модулирует уровень экспрессии ГПЛ в ответ на изменяющиеся условия окружающей среды, но эти механизмы пока не описаны. Известно, что у шероховатого фенотипа *M. abscessus* уровень экспрессии гена *lsr2*, кодирующего нуклеоид-ассоциированный белок (НАБ), гораздо выше, чем у гладкого, а отсутствие *Lsr2* приводит к снижению вирулентности *M. abscessus ex vivo* и *in vivo* [40].

Недавно было показано, что делеция малой РНК В11 *M. abscessus* приводит к переходу гладкого морфотипа в шероховатый, а также способствует усилению передачи провоспалительных сигналов, возрастанию вирулентности при инфекции и повышению устойчивости к антибиотикам [41]. Авторы полагают, что малая РНК В11 действует как негативный регулятор, опосредуя регуляцию экспрессии генов и формирование клинически важных фенотипов у *M. abscessus* [41].

Как было упомянуто выше, одним из главных отличий шероховатого морфотипа *M. abscessus* от гладкого является его способность образовывать корды. Макрофаги могут поглощать клетки как S-, так и R-морфотипов, однако, благодаря присутствию ГПЛ на поверхности клеток микобактерий S-морфотипа, такие структуры, как маннозиды фосфатидилинозитола (МФИ) и липопотеины (ЛП), остаются скрытыми от толл-подобных рецепторов макрофагов ТПР2, что препятствует распознаванию патогена и позволяет *M. abscessus* избегать действия врожденного иммунного ответа организма-хозяина [42, 43]. Кроме того, клетки *M. abscessus* S-морфотипа обладают хорошей подвижностью, что помогает им колонизировать различные поверхности. Также за счет гидрофильности клетки *M. abscessus* S-морфотипа активно образуют биопленки, что существенно усложняет процесс лечения инфекции [44, 45]. При фагоцитозе клеток *M. abscessus* гладкого морфотипа образуются фагосомы, содержащие единичные микобактерии, к клеточной стенке которых достаточно плотно прилегает фагосомальная мембрана. Микобактерии способны блокировать созревание фагосомы и лизировать ее мембрану с последующим выходом в цитозоль клетки-хозяина. Предположительно, это происходит при участии белков, секретируемых системой секреции ESX-4. В случае

фагоцитоза клеток *M. abscessus* шероховатого морфотипа макрофаги захватывают небольшие скопления микобактерий, в результате чего образуются «социальные» фагосомы с двумя и более клетками *M. abscessus*. По этой причине мембрана фагосомы не устанавливает тесного контакта с клеточной стенкой *M. abscessus*, что и позволяет бактериям реплицироваться внутри фагосом [46]. Пребывая внутри фагосомы, клетки шероховатого морфотипа подвергаются закислению, но это не приводит к их быстрой деградации, а вызывает формирование аутофагосом и последующий апоптоз с высвобождением агрегированных микобактерий.

III. РЕГУЛЯТОРЫ ВИРУЛЕНТНОСТИ

В целом, фундаментальное понимание регуляции экспрессии генов и фенотипической адаптации НТМБ и, конкретно, *M. abscessus*, к изменяющимся внешним условиям значительно отстает от уровня понимания, достигнутого для *M. tuberculosis*. Во многом это объясняется относительно недавним признанием *M. abscessus* опасным патогеном человека. Тем не менее, за последнее время было идентифицировано два глобальных регулятора вирулентности и патогенеза *M. abscessus*: белок Lsr2 и малая РНК B11.

LSR2

Lsr2 относится к семейству НАБ, структурирующих нуклеоиды являющихся глобальными транскрипционными факторами [47]. Недавние исследования подчеркнули ключевую роль НАБ в адаптации бактерий к изменению условий окружающей среды [48]. Lsr2 действует как плейотропный регулятор, влияя на экспрессию многочисленных генов, необходимых для вирулентности и формирующих ответ бактерий на стресс посредством связывания с областями генома, насыщенными аденином и тиминном [40, 49]. Исследования возможных ДНК-белковых взаимодействий путем иммунопреципитации хроматина и последующим высокоэффективным секвенированием ДНК (ChIP-seq) показали, что Lsr2 *M. tuberculosis* связывается с генами, кодирующими ферменты биосинтеза систем секреции антигенов ESX, биосинтеза димикоцерозата фтиоцерола (ДМФЦ) и фенольных гликолипидов (ФГЛ) клеточной стенки, а также антигенные белки семейства PE-PPE, ассоциированные с вирулентностью микобактерий [50]. Известно, что в клетках *M. tuberculosis* белок Lsr2 выступает как регулятор экспрессии генов, ответственных за жизнеспособность микобактерий при изменениях доступности кислорода и действии его активных форм (АФК) [51, 52]. Установлено, что белок Lsr2 участвует в поддержании жизнеспособности *M. tuberculosis* при наличии неблагоприятных факторов внешней среды [53–57]. Кроме того, было также показано, что он способствует устойчивости микобактерий туберкулеза к антибиотикам [55]. Однако, для клеток *M. abscessus*, также как и для *M. smegmatis*, белок Lsr2 не является необходимым (essential) для жизнеспособности. Тем не менее, он регулирует широкий спектр факторов вирулентности, существенных для выживания *M. abscessus* в клетках хозяина [82]. К ним относятся мембраносвязанные белки, порины, секретлируемые белки, регуляторы транскрипции, белки, участвующие в модификации и транспорте компонентов клеточной поверхности и молекулы, составляющие внешнюю микобактериальную мембрану (Рис. 2).

Транскриптомные исследования показали, что в клетках *M. abscessus* R-морфотипа ген *lsr2* экспрессируется активнее, нежели в клетках S-морфотипа [40]. При изучении мутантных штаммов *M. abscessus* с нокаутированным геном *lsr2* (S- и R-варианты) было

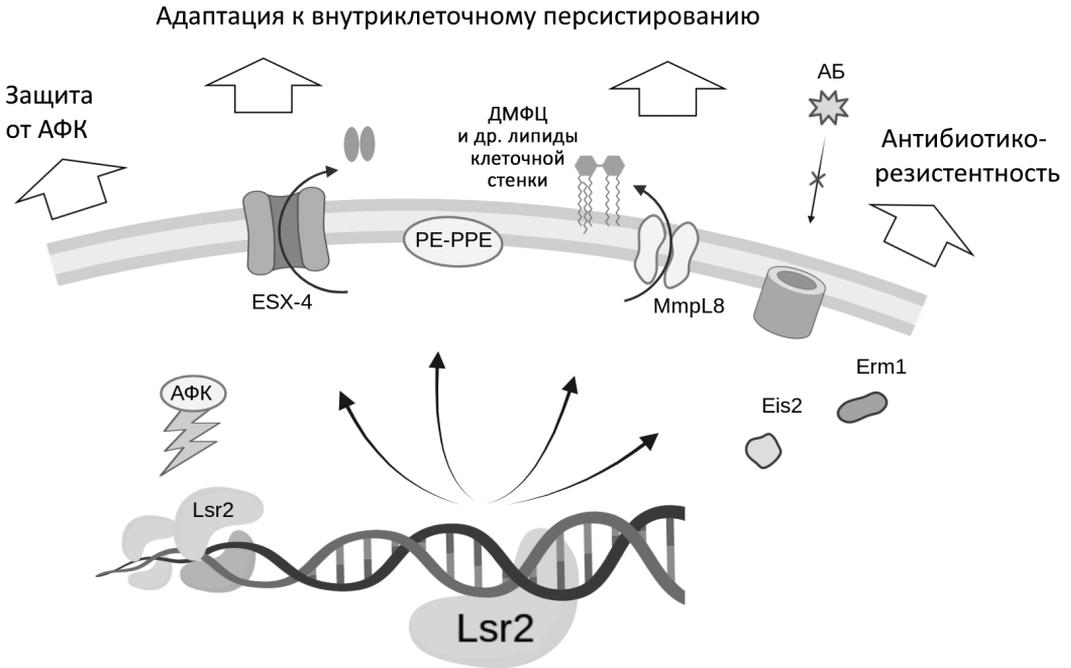


Рис. 2. Белок Lsr2 – глобальный регулятор вирулентности *M. abscessus*.

Lsr2 способствует устойчивости патогена к антибиотикам (АБ) и обеспечивает его адаптацию к внутриклеточному персистированию, регулируя экспрессию генов, ответственных за жизнеспособность микобактерий при действии АФК, а также генов, кодирующих широкий спектр факторов вирулентности: секретируемые белки системы ESX, регуляторы транскрипции, белки, участвующие в модификации и транспорте компонентов клеточной поверхности (ДМФЦ и гликолипиды), антигенные белки семейства PE-PPE и проч.

выявлено, что отсутствие белка Lsr2 не вызывало изменений в экспрессии ГПЛ. Однако, делеция гена *lsr2* увеличивала восприимчивость клеток *M. abscessus* R-морфотипа к окислительному стрессу, подчеркивая роль белка Lsr2 в защите целостности ДНК от действия АФК, имеющего место при инфекции макрофагов. Кроме того, Lsr2 был необходим для вирулентности *M. abscessus* в модели рыбок данио и при персистенции в легких инфицированных мышей [40].

В дальнейших исследованиях подтвердилась роль белка Lsr2 как плеiotропного регулятора экспрессии генов *M. abscessus*. Показано, что в клетках R-морфотипа Lsr2 регулирует около 215 генов, тогда как в клетках S-морфотипа число регулируемых им генов составило 385, причем 126 из них являлись общими для обоих морфотипов [58]. Так, Lsr2 оказывает влияние на транспорт сидерофоров, метионина, серосодержащих аминокислот, координационных единиц железа, а также на активность аминокислотного АСК-транспортера. Помимо этого данный белок играет роль в метаболизме фенилацетата, глюкозы и органических кислот. Также было выявлено, что Lsr2 регулирует гены, связанные с деградацией жирных кислот. Это может говорить о том, что белок Lsr2 способствует изменению метаболизма *M. abscessus* в сторону потребления липидов в

качестве источника углерода [58]. Таким образом, было подтверждено прямое множественное репрессивное действие белка Lsr2, возникающее в результате его связывания с промоторами или кодирующими последовательностями генов-мишеней в геноме *M. abscessus*, что в очередной раз указывает на глобальную регуляторную роль белка Lsr2, тесно переплетенную с его функцией в формировании и организации генома *M. abscessus* [58].

Еще один ключевой белок *M. abscessus* MmpL8, ответственный за выход микобактерий в цитозоль клетки-хозяина при персистенции, также регулируется Lsr2. В клетках S-морфотипа *M. abscessus* ген *mmpL8* активно экспрессировался по сравнению с делеционным мутантом Δ *Lsr2*, в то время как в клетках R-морфотипа этот ген, наоборот, подавлялся [59]. Важным является то, что среди генов, уровень экспрессии которых зависел от Lsr2, были найдены гены *eis2*, *erm41*, *MAB_1409c* и *MAB_2355c*, ответственные за устойчивость к таким классам антибиотиков, как аминогликозиды и макролиды. Экспериментально было подтверждено, что в клетках мутантных штаммов с делецией *Lsr2* S- и R-морфотипов *M. abscessus* чувствительность к антибиотикам была выше, но допускается, что это могло быть вызвано сопутствующим нарушением метаболизма липидов, что в свою очередь способствовало нарушениям в структуре клеточной стенки штаммов Δ *Lsr2* [58]. Ген *eis2* является важной детерминантой внутриклеточного роста *M. abscessus*, экспрессия *eis2* в макрофагах сильно индуцируется во время инфекции. Данный ген контролирует выработку АФК, а также чувствительность бактерий к перекиси водорода [60]. Ген *erm41*, кодирующий метилтрансферазу, широко изучается на предмет его роли в индуцируемой устойчивости к макролидам у *M. abscessus*, наблюдаемой у 40–60% клинических штаммов [61–63].

МАЛАЯ РНК В11

Известно, что микобактерии экспрессируют малые некодирующие РНК (малые РНК), которые регулируют экспрессию мРНК и белков посредством контроля их стабильности, процессинга и доступа к сайтам связывания рибосом и тем самым активно участвуют в выживании бактерий в разнообразных стрессовых условиях, включая иммунный ответ хозяина [64]. Ортологи некоторых из этих малых РНК были идентифицированы у *M. abscessus* в ходе исследования транскриптома, однако долгое время ничего не было известно об их роли для этого патогена [65]. Малая РНК В11 высококонсервативна у грамположительных ГЦ-богатых бактерий и содержит две шпильки, в каждой из которых располагаются не менее 6 цитозинон подряд. Благодаря этой структурной особенности малую РНК В11 также называют 6С малой РНК [66]. Было выяснено, что гиперэкспрессия В11 вызывала гибель клеток *M. tuberculosis* и нарушения в росте клеток *M. smegmatis*, а также то, что в условиях окислительного стресса В11 *M. tuberculosis* экспрессировалась активнее. Предположительно, В11 может непосредственно взаимодействовать с сайтами связывания рибосом, которые у *M. tuberculosis* и *M. smegmatis* обладают повышенным содержанием пуринов [67, 68].

Недавно Бар-Оз и соавт. с помощью библиотеки транспозонных мутантов *M. abscessus* установили, что вставка транспозона в сайт связывания промотора малой РНК В11 с сигма-фактором приводила к изменению морфологии колоний с гладкого S-морфотипа на шероховатый R-морфотип [41]. Для подтверждения влияния В11 на изменение морфотипа *M. abscessus* были созданы мутанты с делецией гена В11. Мутантные клетки Δ В11 характеризовались снижением уровня синтеза ГПЛ, причем при восста-

новлении ранее удаленного гена микобактерии возвращались к исходному гладкому S-морфотипу. Также было отмечено, что уровни синтеза ГПЛ-3 и ГПЛ-2а сохранялись в одинаковом соотношении как в мутированных клетках, так и в клетках дикого типа. При экспериментах *in vivo* и *in vitro* клетки $\Delta B11$ *M. abscessus* показали активацию провоспалительной реакции по сравнению с клетками дикого типа, а также усиление вирулентности в нескольких экспериментальных моделях, включая модель легочной инфекции мышей [41]. Кроме того, клетки мутантного штамма $\Delta B11$ проявили большую устойчивость к рифампицину и линезолиду [41]. Интересно, что экспрессия более чем 200 генов *M. abscessus*, являющихся участниками многих путей вирулентности и патогенеза, зависела от малой РНК B11 [41]. Авторы показали, что для некоторых из этих генов механистической основой данной регуляции экспрессии является прямое связывание малой РНК B11 с целевой мРНК посредством спаривания комплементарных оснований. Не менее чем у 40% генов с повышенной экспрессией, обнаруженных в штамме $\Delta B11$, были найдены комплементарные B11 последовательности, находящиеся выше стартового кодона, что наводит на мысль о том, что малая РНК B11 по большей части играет роль репрессора. Одними из наиболее высокоэкспрессирующихся генов в штамме $\Delta B11$ были гены локуса *esx-4* – *eccB₄*, *esxU* и *esxT*, причем ген *eccB₄*, предположительно, может регулироваться B11 напрямую [41]. Вместе с тем, в штамме $\Delta B11$ были обнаружены и гены с пониженной экспрессией, например, гены *mps1* и *mps2*, участвующие в синтезе ГПЛ, но количество генов с пониженной экспрессией было меньше, что может говорить о стабилизирующей функции B11. По-видимому, малая РНК B11 отрицательно регулирует «вирулентную» систему секреции ESX-4 и положительно регулирует выработку ГПЛ (которую можно считать «антивирулентной» системой), что в совокупности делает ее супрессором патогенеза *M. abscessus*. Следовательно, B11 может способствовать поддержанию персистирующей стадии инфекции *M. abscessus* [41]. Также было высказано предположение о том, что мутации в С-петлях B11 могут являться эволюционно направленным механизмом, ведущим к изменению морфотипа клеток [41].

IV. ФАКТОРЫ ВИРУЛЕНТНОСТИ СИСТЕМЫ СЕКРЕЦИИ ESX

Системы секреции играют важнейшую роль в поддержании вирулентных свойств патогенных и условно-патогенных микобактерий [69, 70]. Эти многокомпонентные системы способны экспортировать эффекторные молекулы через крайне сложно организованную клеточную стенку микобактерий во внешнюю среду, тем самым подавляя иммунный ответ макроорганизма и способствуя выживанию патогена при инфекции [25]. У микобактерий основными секретирующими системами являются системы VII типа, или системы ESX, которые получили свое название благодаря секретируемому белку массой 6 кДа – ранней секреторной антигенной мишени (6 kDa early secreted antigen target, ESAT-6) *M. tuberculosis*. Белки ESAT-6 (*EsxA*) и CFP-10 (*EsxB*), секретируемые системой ESX-1, являются основными факторами вирулентности *M. tuberculosis* [71]. Частичная делеция системы секреции ESX-1 объясняет ослабление вирулентности, наблюдаемое у вакцинного штамма *Mycobacterium bovis* BCG по сравнению с его предком *M. bovis* [72]. Всего у микобактерий существует пять различных систем ESX (ESX-1÷5), которые кодируются паралогичными локусами [73]. ESX-1, ESX-3 и ESX-5 являются критически важными компонентами вирулентности *M. tuberculosis*, тогда как роль ESX-2 и ESX-4 остается неясной [74]. У *M. abscessus* обнаружено только две системы ESX:

ESX-3, участвующая в гомеостазе железа и цинка, и ESX-4, играющая основную роль в вирулентности, подобно ESX-1 у *M. tuberculosis* [75, 76].

Система ESX-3 *M. abscessus* изучена довольно слабо. Предположительно она, вместе с ESX-4, определяет вирулентность *M. abscessus*, так как мутант Δesx с делецией соответствующего локуса *esx-3*, включающего гены *MAB_2224c-2234c*, вызывал значительное снижение активации передачи провоспалительных сигналов и продукции цитокинов в макрофагах при инфекции по сравнению со штаммом дикого типа [75]. Локус *esx-3 M. abscessus* содержит в своем составе такие важные гены, как *esxG* и *esxH*, которые также присутствуют в локусе *esx-3 M. tuberculosis*. Рекомбинантные белки EsxG и EsxH продемонстрировали синергетическое усиление генерации воспалительных цитокинов в макрофагах, инфицированных штаммом $\Delta esx M. abscessus$. Следовательно, можно предположить, что эти белки имеют решающее значение во внутриклеточном выживании *M. abscessus*, но точный механизм их действия все еще неизвестен [75].

Как известно, пермеабиллизация фагосомальной мембраны, сопровождающаяся секрецией бактериальных эффекторов в цитозоль макрофага и возможным выходом бактерий из фагосом, является ключевым шагом в иммунной резистентности микобактерий. У *M. tuberculosis* белок ESAT-6 (EsxA) системы секреции ESX-1, который формирует гетеродимер с белком CFP-10 (EsxB), также секретлируемым этой системой, является важнейшим эффектором, участвующим в разрушении фагосом [71]. Мутанты *M. tuberculosis*, дефектные по EsxA и/или EsxB, были аттенуированы и не обладали способностью выходить в цитозоль макрофага [77]. Подобный эффект наблюдался также в вакцинном штамме *M. bovis* BCG и авирулентном штамме *M. tuberculosis* H37Ra, у которых отсутствует ESX-1 [78, 79]. Как уже упоминалось ранее, система секреции ESX-4 *M. abscessus* по своей функциональной роли является аналогом системы ESX-1 *M. tuberculosis* [41]. При создании плотного контакта между клеточной стенкой *M. abscessus* гладкого морфотипа и мембраной фагосомы клетки микобактерий выходят в цитозоль макрофага путем образования пор в везикулярной мембране [1]. Недавно было показано, что белки EsxT и EsxU *M. abscessus* (*MAB_3753c* и *MAB_3754c*) служат функциональными аналогами белков EsxA и EsxB *M. tuberculosis*, соответственно, и их делеция также приводит к уменьшению контакта фагосомы с цитозолем [76]. Более того, разрыв фагосомальной мембраны происходит только при наличии у *M. abscessus* интактного гена *eccB4*, также входящего в состав локуса *esx-4*. Делеция данного гена, кодирующего белок EccB4 – структурный компонент системы секреции ESX-4, вызывала заметные изменения в способности клеток *M. abscessus* к внутриклеточному выживанию. Это было связано с тем, что при инфекции макрофагов мутантными клетками $\Delta eccB4 M. abscessus$ наблюдалось закисление фагосомы, что впоследствии приводило к отсутствию лизиса везикулярной мембраны. Кроме того, анализ протеома показал снижение количества белков семейства PE/PPE, EsxU и EsxT в штамме $\Delta eccB4$ по сравнению с диким типом *M. abscessus* [76]. При одновременной делеции *esxU* и *esxT* клетки *M. abscessus* оставались внутри фагосом, которые, в отличие от фагосом, инфицированных мутантами с делецией гена *eccB4*, не закислялись со временем. Также мутанты $\Delta esxUT$ приводили к формированию гипerviрулентного фенотипа *in vivo*, для которого было характерно активное гранулемообразование и возникновение абсцессов. Однако, на протяжении всей инфекции *in vivo* не были выявлены специфические антитела к белкам EsxU и EsxT, что может говорить об их кратковременном синтезе в начале инфекции [80].

БЕЛКИ СЕМЕЙСТВА MmpL

Еще одним семейством факторов вирулентности микобактерий являются большие мембранные белки микобактерий MmpL (*англ. mycobacterial membrane protein large*). Они способствуют вирулентности патогенных микобактерий посредством транспорта субстратов, которые, при правильной локализации, напрямую влияют на выживаемость бактерий в организме-хозяине. Большинство, но не все идентифицированные субстраты белков семейства MmpL представляют собой липиды клеточной стенки, тесно связанные с вирулентностью микобактерий [81]. Липиды, транспортируемые MmpL, входят в состав микомембраны *M. tuberculosis*, и именно благодаря им клетки микобактерий получают способность персистировать в организме-хозяине и модулировать его иммунный ответ [81]. Роль белков MmpL в вирулентности микобактерий, а также в придании им устойчивости к действию противомикробных препаратов на данный момент активно изучается [82].

У *M. tuberculosis* обнаружено 13 белков MmpL (MmpL1÷13), тогда как у *M. abscessus* идентифицирован 31 белок MmpL [82]. Как уже говорилось в предыдущих главах, белок MmpL4 *M. abscessus* опосредует превращение гладкого S-морфотипа в шероховатый R-морфотип, характеризующийся повышенной вирулентностью [36]. Установлено, что еще один представитель данного семейства, белок MmpL8, играет важнейшую роль в выживании *M. abscessus* внутри эукариотических клеток. Так, мутантный штамм $\Delta mmpL8$ *M. abscessus* характеризовался нарушением взаимодействия бактерий с фагоцитирующими клетками и демонстрировал пониженную способность к внутриклеточному выживанию. Несмотря на сохранение способности штамма $\Delta mmpL8$ блокировать закисление фагосом, наблюдалось ослабление его вирулентности, что было подтверждено в моделях *in vivo* с использованием рыбок данио. Кроме того, белок MmpL8 был также необходим для экспрессии ранее неизвестного семейства гликолипидов – гликозилдиацилированных нонадецилдиоловых спиртов, содержащих в своем составе олеиновую и стеариновую кислоту в различном соотношении [59]. Этот гликолипид уникален для *M. abscessus* и может играть специфическую роль в развитии инфекции.

Помимо прочего, белки семейства MmpL выполняют функцию эффлюксных насосов микобактерий, обеспечивая отток лекарственных средств, проникающих внутрь клетки [83]. Тот факт, что по сравнению с другими микобактериями *M. abscessus* экспрессирует большее количество белков MmpL, может служить одним из объяснений его более высокой устойчивости к антибиотикам по сравнению с другими видами микобактерий [84]. Например, регулятор транскрипции TetR (*MAB_2299*) контролирует гены, кодирующие эффлюксный насос MmpS-MmpL, и мутации в этих генах приводят к снижению устойчивости *M. abscessus* к клофазимину и бедаквилину [85, 86].

ФОСФОЛИПАЗА С

Фосфолипаза С – хорошо известный бактериальный фактор вирулентности [87]. Наличие гена фосфолипазы С характерно для патогенных видов микобактерий, тогда как в геномах непатогенных видов *M. smegmatis* и *M. chelonae* соответствующие гены отсутствуют [88]. Интересно, что у *M. abscessus* фосфолипаза С на 45% идентична аминокислотной последовательности фосфолипазы С грамотрицательной бактерии *Pseudomonas aeruginosa* – одного из главных патогенов, обнаруживаемых в легких больных муковисцидозом. Это позволяет высказать гипотезу о возможном горизонтальном переносе

кластеров генов между эволюционно далекими видами бактерий [88]. При этом ее идентичность четырем фосфолипазам *M. tuberculosis*, кодируемым генами *plcA*, *plcB*, *plcC* и *plcD*, ниже и составляет от 38 до 42% [89].

Бытуют различные мнения насчет роли фосфолипазы С у микобактерий. Одно из исследований указывает на важность фосфолипазы С в процессе выхода микобактерий *M. tuberculosis* в цитозоль макрофагов при инфекции, причем, предположительно, ген *plcD*, расположенный в локусе отличном от локуса, в котором находятся гены *plcA*, *plcB* и *plcC*, не играет в этом процессе существенной роли [89]. В другом же исследовании, наоборот, опровергли вклад фосфолипазы С в вирулентность *M. tuberculosis*, но подчеркнули ее роль в предоставлении органического фосфата клеткам в условиях персистенции внутри фагосом [90].

С целью выяснения функциональной роли фосфолипазы С в клетках *M. abscessus* были проведены эксперименты по прямому воздействию рекомбинантного фермента на инфицированные макрофаги. Рекомбинантная фосфолипаза С *M. abscessus*, кодируемая геном *MAB_0555*, была экспрессирована в клетках *M. smegmatis*, и было обнаружено, что полученный рекомбинантный белок обладал лизирующей активностью в отношении мышинных макрофагов. Предположительно, это объясняется способностью рекомбинантной фосфолипазы С гидролизовать мембранные фосфолипиды эукариотических клеток [91]. На следующем этапе работы для инфицирования макрофагов использовался мутантный штамм *M. abscessus* с инактивированным геном *MAB_0555*, который был получен методом аллельного обмена последовательности данного гена на вставку с кассетой устойчивости к антибиотику зооцину. В качестве контроля для инфекции макрофагов также использовали штамм *M. abscessus*, в котором ранее удаленный ген *MAB_0555* был восстановлен. В результате было установлено, что отсутствие фосфолипазы С не влияет на характер роста *in vitro* и жизнеспособность *M. abscessus* в макрофагах мыши [91].

Однако, при совместном культивировании мутантного штамма *M. abscessus* с делецией гена *MAB_0555* и амёб *Acanthamoeba castellanii* наблюдалось резкое снижение жизнеспособности клеток микобактерий внутри амёб по сравнению со штаммом *M. abscessus* дикого типа, который сохранял способность к внутриклеточному размножению. После восстановления утраченного гена в штамме с делецией *MAB_0555* клетки *M. abscessus* были способны выживать внутри амёб, хотя и в меньшей степени, чем штамм дикого типа [91]. При выделении клеток *M. abscessus* дикого типа после совместного культивирования с *A. castellanii* и последующего инфицирования ими мышей в аэрозольной модели заражения было обнаружено существенное повышение вирулентности *M. abscessus* по сравнению с клетками, культивируемыми *in vitro*. Исследователи связывают повышение вирулентности с индукцией экспрессии фосфолипазы С, обнаруженной при совместном культивировании *M. abscessus* с *A. castellanii* [91]. Следует отметить, что диацилглицерин, образующийся при гидролизе мембранных фосфолипидов эукариотических клеток фосфолипазой С, является хорошо известным вторичным мессенджером, активирующим протеинкиназу С, которая, в свою очередь, способствует активации иммунных клеток, что в итоге приводит к усилению воспалительной реакции [91]. Фосфолипаза С также рассматривается в качестве антигенной мишени для разработки ДНК-вакцин против инфекции *M. abscessus* [88]. Наличие данного фермента у других патогенов, обнаруживаемых в легких больных муковисцидозом, в первую очередь, у *P. aeruginosa*, и перекрестная реактивность между этими ферментами может привести к

созданию вакцины, защищающей как от микобактериальной инфекции, так и от инфекции, вызываемой синегнойной палочкой [88]. Авторы показали, что ДНК-вакцина на основе *MAB_0555 M. abscessus* способна снижать бактериальную нагрузку у болеющих муковисцидозом мышей линии FVB с мутацией $\Delta F508$ в гене, кодирующем трансмембранный регулятор муковисцидоза, после аэрозольной инфекции, причем не только гладким S-, но и шероховатым гипервирулентным R-морфотипом. На долю мутации $\Delta F508$ приходится примерно 70% всех мутаций в гене трансмембранного регулятора муковисцидоза, нарушение работы данного регулятора приводит к нарушению нормального образования слизи в дыхательных путях, и, как следствие, к ее накоплению и развитию стойких инфекций легких. Для сравнения, мыши линии FVB дикого типа не проявляли защитного фенотипа против инфекции *M. abscessus* после вакцинации. Это указывает на перспективность разработки ДНК-вакцины на основе фосфолипазы C для больных муковисцидозом [88].

MGTC

Белок MgtC является фактором вирулентности, который был предложен в качестве мишени для борьбы сразу с несколькими бактериальными патогенами, поскольку он достаточно консервативен для многих их видов [92, 93]. MgtC был описан как фактор, определяющий внутримакрофагальный рост таких бактерий, как *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella suis*, *Yersinia pestis*, *Burkholderia cenocepacia* и *Salmonella enterica* [94–98]. Оказалось, что белок MgtC также чрезвычайно важен для внутриклеточной фазы роста внеклеточного патогена *P. aeruginosa*: MgtC влияет на его устойчивость к киллинговому действию со стороны макрофагов [99]. Кроме того, данный белок принимает участие в адаптации патогенных бактерий к среде с низким содержанием Mg^{2+} [92, 93, 99]. Для *M. marinum* была установлена существенная роль MgtC в фагоцитозе [93]. При исследовании мутантного штамма *M. marinum* по гену *mgtC* было обнаружено, что, хотя штамм не был аттенуирован в *in vivo* модели с использованием эмбрионов рыбки данио, его фагоцитоз нейтрофилами происходил более эффективно, чем фагоцитоз *M. marinum* дикого типа. При этом оказалось, что MgtC *M. marinum* не оказывает существенного влияния на внутримакрофагальную репликацию микобактерий, то есть у разных патогенов роль данного белка во взаимодействии с фагоцитирующими клетками может различаться [93].

У *M. abscessus* было обнаружено два *mgtC*-подобных гена: *MAB_3593* и *MAB_0146*, но соответствующие им белки относятся к разным филогенетическим кластерам. Так, белок *MAB_3593* принадлежит к тому же кластеру, что и MgtC *M. tuberculosis*, *M. avium*, *P. aeruginosa* и *B. cenocepacia*, тогда как белок *MAB_0146* входит в один кластер с MgtC белками *M. avium* и *A. fumigatus*. Для того чтобы изучить роль MgtC-подобных белков *M. abscessus* в поддержании жизнеспособности клеток в условиях сниженной концентрации Mg^{2+} , бактерии рода *Salmonella*, мутантные по гену *mgtC*, были комплементированы генами *MAB_3593* и *MAB_0146 M. abscessus* по отдельности. В результате мутантные клетки сальмонеллы с геном *MAB_3593* показали восстановление роста в среде с недостатком Mg^{2+} в отличие от клеток, комплементированных геном *MAB_0146*. В случае мутации *M. abscessus* по гену *MAB_3593* был выявлен дефект роста при нехватке в среде Mg^{2+} , а также снижение пролиферации клеток при внутриклеточном росте в макрофагах, но при этом внутриклеточный рост мутантных клеток существенно

не отличался от роста микобактерий дикого типа [100]. Оценка экспрессии мРНК показала значительное повышение уровня экспрессии *MAB_3593* в условиях сниженной концентрации Mg^{2+} , в отличие от *MAB_0146* [100]. Кроме того, была выявлена индукция *MAB_3593* при фагоцитировании *M. abscessus* макрофагами как на транскрипционном, так и на трансляционном уровнях [100].

Белок *MAB_3593* обнаруживался в сыворотке больных муковисцидозом, инфицированных *M. abscessus* [100]. Было отмечено, что иммунизация ДНК *MAB_3593 M. abscessus* оказывает защитное действие при аэрозольном заражении *M. abscessus* мышей линии FVB с мутацией $\Delta F508$, больных муковисцидозом. Наблюдаемый эффект, по-видимому, был связан с выработкой специфических антител к белку *MAB_3593* при инфекции *M. abscessus*. Эти результаты создают основу для разработки новых терапевтических подходов для лечения легочных инфекций у пациентов с муковисцидозом [100].

V. ВНУТРИКЛЕТОЧНОЕ ПЕРСИСТИРОВАНИЕ *M. ABSCESSUS*

ГРАНУЛЕМОПОДОБНЫЕ СТРУКТУРЫ –

СПОСОБ УКЛОНЕНИЯ ПАТОГЕНА ОТ ИММУННОГО ОТВЕТА

В процессе эволюции патогенные микобактерии научились использовать иммунный ответ организма-хозяина в свою пользу. Очаг воспаления в виде гранулем, который макроорганизм формирует с целью предотвращения распространения бактериальной инфекции, может быть местом длительного персистирувания микобактерий внутри фагоцитирующих иммунных клеток. В результате, была пересмотрена функциональная роль гранулем в пользу того факта, что раннее гранулемообразование способствует скорее распространению *M. tuberculosis* внутри организма-хозяина, нежели предотвращению этого процесса. Это связано с опосредованным действием системы секреции ESX-1, благодаря которой к инфицированному макрофагу привлекаются все новые макрофаги, которые фагоцитируют клетки *M. tuberculosis*, высвободившиеся после его апоптоза [101, 102]. Клеточно-опосредованный иммунитет, который лежит в основе образования гранулем, основан на представлении антигенпрезентирующими клетками микобактериальных антигенов Т-лимфоцитам типов $CD4^+$, $CD8^+$ и $\gamma\delta^+$. В результате происходит секреция ИФН- γ активированными лимфоцитами, что приводит к активации фагоцитов и выделению цитокинов и хемокинов для дальнейшего привлечения иммунных клеток к месту воспаления [103, 104].

Как уже говорилось в предыдущей главе, гипервирулентный R-морфотип *M. abscessus* лишен ГПЛ на своей поверхности, из-за чего клетки шероховатого морфотипа сильнее провоцируют иммунный ответ, нежели клетки гладкого морфотипа. Это объясняется тем, что слой ГПЛ клеток S-морфотипа маскирует такие агонисты толл-подобных рецепторов, как маннозид фосфатидилинозитола и липопротеины. Экспериментально было подтверждено, что клетки R-морфотипа вызывают большую индукцию ФНО- α по сравнению с клетками S-морфотипа в моделях инфекции эмбрионов рыбок данио и мышинных макрофагах [37, 105]. Однако, все еще отсутствует полная информация о процессах, приводящих к воспалительной реакции при инфекции *M. abscessus*, и о том, как воспаление влияет на исход заболевания [37].

Для исследования пути передачи сигналов, опосредованного ФНО- α , при инфекции *M. abscessus*, были получены эмбрионы рыбок данио с подавленной экспрессией гена *tnfr1*, кодирующего TNFR1 – специфический поверхностный рецептор к ФНО- α . Нару-

шение функции TNFR1 приводило к увеличению тяжести инфекции как при инфекции гладким, так и шероховатым морфотипами, что подчеркивает важную защитную роль этого пути передачи сигналов. Прямой подсчет числа персистирующих бактерий в отдельных макрофагах эмбрионов рыбок данио показал, что в случае подавленной экспрессии *tnfr1* количество макрофагов с высокой бактериальной нагрузкой (более 10 бактерий на клетку макрофага) было выше по сравнению с макрофагами эмбрионов рыбки данио дикого типа. Этот факт навел исследователей на мысль о существенной роли ФНО- α в раннем бактерицидном ответе макрофагов [37].

Ранее было обнаружено, что гранулемы, индуцированные инфекцией *M. tuberculosis* и *M. marinum*, могут также образовываться и при отсутствии сигнального пути, опосредованного ФНО- α , причем в этом случае их формирование происходит с более высокой скоростью. Это объясняется уменьшением бактерицидного воздействия со стороны макрофагов, что приводит к активной пролиферации микобактерий и пропорциональному росту экспрессии генов микобактериального локуса RD1, определяющего вирулентность. Со временем макрофаги с высокой бактериальной нагрузкой подвергаются некрозу и гранулема разрушается, часто это явление может описываться как образование слабо-выраженных гранул [102, 106]. Помимо макрофагов, в гранулемоподобных структурах *M. abscessus* были обнаружены и нейтрофилы, рекрутирование которых к месту инфекции, как было обнаружено, происходит при участии интерлейкина-8 [37]. Активная мобилизация нейтрофилов в очаг воспаления является отличительной чертой образования гранулемоподобных структур *M. abscessus* [37]. На сегодняшний день неизвестно, какую именно роль нейтрофилы играют в данном процессе, но в работе, посвященной исследованию ткани человеческих легких, инфицированных различными видами микобактерий, включая *M. abscessus*, *M. avium* и *M. tuberculosis*, в нейтрофилах было выявлено преобладание клеток *M. abscessus*. В свою очередь, циркулирующие в ткани нейтрофилы имеют время полужизни при стандартных условиях примерно 6–8 часов, что, на первый взгляд, противоречит длительному персистирующему образу жизни микобактерий [107].

Интересно, что при подавлении экспрессии *tnfr1* мобилизация нейтрофилов к очагу инфекции также была снижена, что свидетельствует о важной роли сигнального пути, опосредованного ФНО- α , в привлечении нейтрофилов в очаг воспаления. В целом, гранулемоподобные структуры при подавлении экспрессии *tnfr1* выглядели рыхлыми и неоформленными, что, как было описано выше, напоминало гранулемы *M. tuberculosis* и *M. marinum* в отсутствие сигнального пути, опосредованного ФНО- α [37].

Таким образом, нарушение передачи опосредованных ФНО- α сигналов подавляло интерлейкин-8-зависимую мобилизацию нейтрофилов, что, в свою очередь, приводило к образованию aberrантных гранул, обширному скоплению микобактерий, их неограниченному росту и последующей гибели эмбрионов рыбок. Эти результаты также позволяют предположить, что как ФНО- α , так и интерлейкин-8 необходимы для формирования защитного иммунитета макроорганизма против *M. abscessus*. Данный факт объясняет, почему иммуносупрессивная терапия ингибиторами ФНО- α приводит к обострению инфекций, вызываемых *M. abscessus* [37].

ПЕРСИСТИРОВАНИЕ *M. ABSCESSUS* ВНУТРИ АМЕБ

Известно, что многие виды НТМБ, включая *M. abscessus*, могут выживать в трофозоидах и цистах амёб [108]. В пользу того, что *M. abscessus* потенциально способны выживать внутри амёб, говорит и наличие у данного патогена генов, ответственных за внутриклеточную персистенцию. Однако, для подтверждения гипотезы о колонизации свободноживущих амёб бактерией *M. abscessus* не было проведено соответствующих экологических исследований, хотя существуют убедительные факты совместного присутствия в окружающей среде различных видов НТМБ и амёб [109]. В упомянутом исследовании не удалось выявить каких-либо НТМБ внутри свободноживущих амёб, выращенных из проб воды и образцов биопленок, имеющих внутрибольничное происхождение, что позволяет предположить, что колонизация свободноживущих амёб микобактериями требует дополнительных условий и факторов, которые в данный момент нам неизвестны. Можно, например, предположить, что выживание внутри амёб является промежуточной стадией жизненного цикла, позволяющей *M. abscessus* сохраняться в окружающей среде в защищенной экологической нише, и обеспечивает патогену возможность подготовиться к колонизации других хозяев [60].

Интересно, что ген *MAB_0555*, кодирующий фосфолипазу *C M. abscessus* – хорошо известный бактериальный фактор вирулентности – индуцировался при росте патогена внутри амёб, а его удаление снижало выживаемость бактерий [91, 110]. Более того, при аэрозольном заражении мышей клетками *M. abscessus*, предварительно культивированными в амёбах, у бактерий была обнаружена существенно повышенная вирулентность по сравнению со стандартно выращенной культурой *M. abscessus* [91]. Любопытно, что у НТМБ *M. avium* гены, кодирующие фосфолипазу, отсутствуют, однако, внутриамёбное культивирование *M. avium* также способствовало последующей пролиферации патогена в макрофагах и в мышинной модели инфекции [90, 111]. Эти наблюдения позволяют предположить, что внутриамёбный рост может являться для *M. abscessus* и *M. avium* важной вехой в эволюционном переходе бактерий от сапрофитов к патогенам [1]. Действительно, *M. abscessus*, в отличие от сапрофитной бактерии *M. vaccae*, имеет много общих генов вирулентности с патогеном человека *M. tuberculosis*. Возможно, путем приобретения важных генов вирулентности *M. abscessus* эволюционировал и приспособился к внутриклеточному росту в организме человека [112].

Так, скрининг библиотеки транспозонных мутантов *M. abscessus* при росте в амёбах подтвердил важную роль системы секреции ESX-4, которая является функциональным аналогом системы секреции ESX-1 *M. tuberculosis* и имеет большое значение для вирулентности, внутриклеточного выживания и уклонения от фагоцитоза [76]. Делеция гена *eccB4* системы секреции ESX-4 *M. abscessus* приводила к снижению эффективности блокирования закисления фагосом и их распада, что вызывало нарушение внутриклеточной выживаемости мутантного штамма с делецией как в амёбах, так и в макрофагах [76].

VI. РОЛЬ ЭКЗОСОМ В МОДУЛЯЦИИ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ИНФЕКЦИИ *M. ABSCESSUS*

Известно, что бактерии выделяют во внешнюю среду экзосомы – внеклеточные везикулы, несущие такие бактериальные компоненты, как белки, липиды и нуклеиновые кислоты. Бактериальные везикулы играют важную роль в вирулентности бактерий, межклеточной коммуникации, формировании биопленок и выживании в различных стрессовых условиях, таких как ограничение питательных компонентов, нагревание, и проч. [113–115]. Микобактерии, подобно другим бактериям, также используют продукцию внеклеточных везикул во внешнюю среду как адаптивный механизм выживания в неблагоприятных внешних условиях, включая действие антибиотиков [113, 114, 116–119]. Недавно было обнаружено, что воздействие кларитромицина на клетки *M. abscessus* увеличивает уровень секреции бактериальных внеклеточных везикул в культуре и содержание в них микобактериальных белков. Кроме того, было показано, что внеклеточные везикулы, высвобождаемые клетками *M. abscessus* в присутствии кларитромицина, повышают устойчивость необработанных кларитромицином бактерий к действию этого антибиотика [113]. Существует возможность потенциального применения бактериальных внеклеточных везикул для диагностических и терапевтических целей, поскольку их можно выделить из различного биоматериала, такого как кровь, моча и др. Дальнейшее изучение функции бактериальных везикул может привести к разработке новых подходов к профилактике и лечению бактериальных инфекций [120, 121].

В свою очередь, эукариотические клетки, инфицированные бактериальными патогенами, также высвобождают внеклеточные экзосомы или везикулы. Эти экзосомы содержат белки, липиды, разнообразные нуклеиновые кислоты, различные метаболиты как бактериальной, так и эукариотической природы, причем состав этих везикул в течение инфекции может изменяться [122]. Экзосомы, высвобождаемые инфицированными макрофагами, могут воздействовать на клетки иммунной системы, стимулируя выработку макрофагами провоспалительных медиаторов, таких как ФНО- α . Также экзосомы могут способствовать активации наивных антигенспецифических Т-клеток *in vivo*, тем самым противостоя патогену [123]. С другой стороны, экзосомы, содержащие микобактериальные компоненты, могут модулировать функцию макрофагов, способствуя выживанию микобактерий. Одним из возможных механизмов в этом контексте является способность экзосом снижать восприимчивость макрофагов к активации ИФН- γ . Действительно, было обнаружено, что воздействие на наивные макрофаги экзосомами, полученными из инфицированных *M. tuberculosis* макрофагов, делает их невосприимчивыми к последующей активации ИФН- γ [124].

Сингх и соавт. предположили, что мембранные везикулы, содержащие микобактериальные компоненты, высвобождаемые из инфицированных макрофагов, могут способствовать привлечению иммунных клеток и регуляции взаимодействия «патоген-хозяин» во время формирования гранулемы. В подтверждение этой гипотезы они показали, что костномозговые макрофаги резистентных к туберкулезу мышей линии C57BL/6, обработанные экзосомами, полученными из инфицированных *M. tuberculosis* макрофагов линии RAW264.7, характеризовались повышенной секрецией хемокинов RANTES и MIP-1 α , отвечающих за миграцию лимфоцитов и моноцитов [122]. Экзосомы, выделенные из сыворотки мышей, инфицированных *M. bovis* BCG, также могли стимулировать выработку макрофагами хемокинов и цитокинов. Интересно, что кон-

центрация экзосом в сыворотке сильно коррелирует с бактериальной нагрузкой у мышей, что указывает на важную роль везикул в иммунной регуляции. Также было отмечено, что экзосомы, вводимые мышам интраназально, способствуют привлечению клеток CD11b⁺ в легкие [122].

В другом исследовании проводился эксперимент по иммунизации мышей экзосомами макрофагов, обработанных фильтратом культуры *M. tuberculosis*. В результате у животных наблюдалась активация антигенспецифических CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, а также развивалась защитная иммунная реакция в ответ на инфекцию *M. tuberculosis*, сравнимая с реакцией на вакцину БЦЖ. Авторы полагают, что в перспективе экзосомы могут служить основой для новой бесклеточной вакцины против *M. tuberculosis* [125].

С другой стороны, экзосомы могут, наоборот, способствовать уклонению патогена от иммунного ответа организма-хозяина. Так, известно, что инфицированные *M. tuberculosis* макрофаги невосприимчивы к ИФН- γ . Потеря чувствительности объясняется тем, что микобактерии туберкулеза экспрессируют ряд компонентов (липопротеин массой 19 кДа, пептидогликан и проч.), которые могут связываться с рецепторами макрофагов, включая TLR2. В состав экзосом инфицированных макрофагов также входят микобактериальные компоненты, в том числе липопротеин массой 19 кДа, поэтому макрофаги, подвергшиеся воздействию экзосом, демонстрируют ограниченный ответ на стимуляцию ИФН- γ . Сами же экзосомы обеспечивают механизм, с помощью которого микобактерии могут подавлять иммунный ответ хозяина за границами инфицированной клетки [124]. Сан и соавт. подтвердили, что экзосомы, полученные из инфицированных *M. tuberculosis* иммунных клеток, наряду с цитокинами и молекулами главного комплекса гистосовместимости II класса, содержат и антигены патогена. Эти экзосомы играют критическую роль в иммунном ответе на инфекцию *M. tuberculosis*, запуская различные иммунные реакции, такие как воспаление, презентация антигена и проч. [126]. Авторы подчеркивают, что экзосомы могут найти свое применение в доставке компонентов вакцин (белков, пептидов и РНК) при различных инфекционных заболеваниях и обладают потенциалом для обеспечения более эффективной стратегии вакцинации против туберкулеза [126].

Экзосомы, формирующиеся макрофагами при инфекции клетками *M. abscessus*, как, впрочем, и другими нетуберкулезными микобактериями, изучены недостаточно. Недавно было проведено исследование, в котором анализировался протеом экзосом, выделенных из плазмы крови здоровых людей и пациентов, инфицированных *M. abscessus*, *M. tuberculosis* и *M. intracellulare*. У пациентов, инфицированных *M. abscessus*, по сравнению с неинфицированными людьми, была обнаружена разница в экспрессии 139 белков, при этом 127 из них характеризовались повышенной регуляцией, а 12 - пониженной. При сравнении протеомов экзосом, полученных при инфекции *M. intracellulare* и *M. abscessus*, были найдены 25 дифференциально экспрессируемых белка, а при сравнении протеомов *M. tuberculosis* и *M. abscessus* количество дифференциально экспрессируемых белков составило 63. В целом анализ показал, что экзосомы, полученные при инфекции *M. abscessus*, обладали повышенным уровнем экспрессии белков системы комплемента и коагуляции, по сравнению с контрольными экзосомами из плазмы крови здоровых людей, в то время как содержание данных белков в экзосомах, полученных при инфекции *M. intracellulare* и *M. tuberculosis*, было на более низком уровне [127]. Полученные результаты согласуются с гипотезой о том, что прогрессирование микобактериальных легочных инфекций связано с активацией системы комплемента, которая является важной

частью врожденной и адаптивной иммунной системы, усиливающей функцию антител и фагоцитов [128, 129]. Кроме того, это исследование показало, что у пациентов, инфицированных *M. abscessus*, по сравнению со здоровыми людьми из контрольной группы, активировался транскрипционный фактор ГИФ-1, индуцируемый гипоксией, и играющий важную роль в развитии и патогенезе заболеваний млекопитающих [130]. Было показано, что активация ГИФ-1 может усиливать бактерицидное действие макрофагов на *M. tuberculosis* [131]. Недавнее исследование продемонстрировало, что экзосомы, полученные из мезенхимальных стволовых клеток, инфицированных *M. tuberculosis*, вызывают провоспалительную реакцию макрофагов за счет увеличения выработки ФНО- α , хемокина RANTES и индуцируемой NO-синтазы iNOS [132]. Однако детальную функцию экзосом, секретируемых эукариотическими клетками, инфицированными микобактериями, и, в частности, *M. abscessus*, еще предстоит изучить.

VII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние десятилетия НТМБ привлекают к себе все больше пристального внимания со стороны медицинского и научного сообществ. Это связано с их широкой распространенностью в мире, что может приводить к серьезным последствиям в виде роста числа различных хронических инфекций у пациентов, находящихся в группе риска. В данном обзоре подробно была рассмотрена быстрорастущая микобактерия *M. abscessus*, естественная лекарственная устойчивость которой к противомикробным препаратам представляет серьезную угрозу для современного здравоохранения. *M. abscessus* длительное время рассматривалась как низковирулентная НТМБ, однако некоторое время назад было установлено, что она может проявлять себя как высоковирулентный патоген, вызывающий тяжелые, главным образом легочные инфекции, особенно у больных муковисцидозом и у лиц с сопутствующими респираторными заболеваниями. До сих пор в мире не существует четких протоколов лечения инфекций, вызываемых *M. abscessus*. В большинстве клинических рекомендаций предлагается длительное использование комбинации трех или более препаратов, в первую очередь макролидов (азитромицин или кларитромицин), аминогликозидов (амикацин) и бета-лактамов (имипенем или цефокситин), а также тетрациклинов (миноциклин и тигециклин), фторхинолонов (моксифлоксацин) и проч., предпочтительно в форме инъекций. Длительность курса обычно составляет 24 месяца и более, при этом полное излечение наблюдается менее чем в половине случаев. Таким образом, легочные инфекции *M. abscessus* являются хроническими, успех их излечения в настоящее время редок. Несмотря на некоторый прогресс в понимании оригинальных стратегий уклонения *M. abscessus* от иммунного ответа организма-хозяина, произошедший за последние 5–10 лет, факторы вирулентности и механизмы, позволяющие этой бактерии длительно выживать во враждебной внутриклеточной среде клеток иммунной системы, пока остаются недостаточно изученными. Необходимы дальнейшее изучение уникальных факторов вирулентности *M. abscessus* и разработка инновационных методов лечения на основе полученных экспериментальных данных.

Работа частично поддержана Российским научным фондом, проект № 23-15-00173 (разделы I-IV).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Johansen, M.D., Herrmann, J.L., Kremer, L. (2020) Non-tuberculous mycobacteria and the rise of *Mycobacterium abscessus*, *Nature Reviews Microbiology*, **18**, 392–407.
2. Wolinsky, E. (1992) Mycobacterial diseases other than tuberculosis, *Clinical Infectious Diseases*, **15**, 1–12.
3. Cole, S.T., Eiglmeier, K., Parkhill, J., James, K.D., Thomson, N.R., Wheeler, P.R., Honoré N., Garnier T., Churcher C., Harris D., Mungall K., Basham D., Brown D., Chillingworth T., Connor R., Davies R.M., Devlin K., Duthoy S., Feltwell T., Fraser A., Hamlin N., Holroyd S., Hornsby T., Jagels K., Lacroix C., Maclean J., Moule S., Murphy L., Oliver K., Quail M. A., Rajandream M.-A., Rutherford K.M., Rutter S., Seeger K., Simon S., Simmonds M., Skelton J., Squares R., Squares S., Stevens K., Taylor K., Whitehead S., Woodward J.R., Barrell, B.G. (2001) Massive gene decay in the leprosy bacillus, *Nature*, **409**, 1007–1011.
4. Falkinham, J.O. (2015) Environmental sources of nontuberculous mycobacteria, *Clinics in Chest Medicine*, **36**, 35–41.
5. Gardini, G., Ori, M., Codecasa, L.R., Matteelli, A., Network, I. (2021) Pulmonary nontuberculous mycobacterial infections and environmental factors: A review of the literature, *Respiratory Medicine*, **189**, 106660.
6. Henkle, E., Hedberg, K., Schafer, S., Novosad, S., Winthrop, K.L. (2015) Population-based incidence of pulmonary nontuberculous mycobacterial disease in Oregon 2007 to 2012, *Annals of the American Thoracic Society*, **12**, 642–647.
7. Marras, T.K., Mendelson, D., Marchand-Austin, A., May, K., Jamieson, F.B. (2013) Pulmonary nontuberculous mycobacterial disease, Ontario, Canada, 1998–2010, *Emerging Infectious Diseases*, **19**, 1889.
8. Brode, S.K., Daley, C. L., Marras, T.K. (2014) The epidemiologic relationship between tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial disease: a systematic review, *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, **18**, 1370–1377.
9. Tortoli, E., Kohl, T.A., Brown-Elliott, B.A., Trovato, A., Leão, S.C., Garcia, M.J., Vasireddy S., Turenne, C. Y., Griffith, D.E., Philley, J.V., Baldan, R., Campana, S., Cariani, L., Colombo, C., Taccetti, G., Teri, A., Niemann, S., Wallace Jr, R.J., Cirillo, D.M. (2016) Emended description of *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* and *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* and designation of *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* comb. nov, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **66**, 4471–4479.
10. Medjahed, H., Gaillard, J.L., Reytrat, J.M. (2010) *Mycobacterium abscessus*: a new player in the mycobacterial field, *Trends in Microbiology*, **18**, 117–123.
11. da Silva, J.L., Nguyen, J., Fennelly, K.P., Zelazny, A.M., Olivier, K.N. (2018) Survival of pathogenic *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* in *Acanthamoeba castellanii*, *Research in Microbiology*, **169**, 56–60.
12. Delafont, V., Mougari, F., Cambau, E., Joyeux, M., Bouchon, D., Héchard, Y., Moulin, L. (2014) First evidence of amoebae–mycobacteria association in drinking water network, *Environmental Science & Technology*, **48**, 11872–11882.
13. Roux, A.L., Catherinot, E., Ripoll, F., Soismier, N., Macheras, E., Ravilly, S., Bellis, G., Vibet, M.A., Le Roux, E., Lemonnier, L., Gutierrez, C., Vincent, V., Fauroux, B., Rottman, M., Guillemot, D., Gaillard, J.L. (2009) Multicenter study of prevalence of nontuberculous mycobacteria in patients with cystic fibrosis in France, *Journal of Clinical Microbiology*, **47**, 4124–4128.
14. Nessar, R., Cambau, E., Reytrat, J.M., Murray, A., Gicquel, B. (2012) *Mycobacterium abscessus*: a new antibiotic nightmare, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **67**, 810–818.
15. Koh, W.J., Stout, J.E., Yew, W.W. (2014) Advances in the management of pulmonary disease due to *Mycobacterium abscessus* complex, *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, **18**, 1141–1148.
16. Catherinot, E., Roux, A.L., Vibet, M.A., Bellis, G., Ravilly, S., Lemonnier, L., Le Roux, E., Bernède-Bauduin, C., Le Bourgeois, M., Herrmann, J.L., Guillemot, D., Gaillard, J.L. (2013)

- Mycobacterium avium and Mycobacterium abscessus complex target distinct cystic fibrosis patient subpopulations, *Journal of Cystic Fibrosis*, **12**, 74–80.
17. Dawrs, S.N., Kautz, M., Chan, E.D., Honda, J.R. (2020) Mycobacterium abscessus and gastroesophageal reflux: an in vitro study, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **202**, 466–469.
 18. Henkle, E., & Winthrop, K.L. (2015) Nontuberculous mycobacteria infections in immunosuppressed hosts, *Clinics in Chest Medicine*, **36**, 91–99.
 19. Degiacomi, G., Sammartino, J.C., Chiarelli, L.R., Riabova, O., Makarov, V., Pasca, M.R. (2019) Mycobacterium abscessus, an emerging and worrisome pathogen among cystic fibrosis patients, *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, 5868.
 20. To, K., Cao, R., Yegiazaryan, A., Owens, J., Venketaraman, V. (2020) General overview of nontuberculous mycobacteria opportunistic pathogens: Mycobacterium avium and Mycobacterium abscessus, *Journal of Clinical Medicine*, **9**, 2541.
 21. Tam, P.Y.I., Kline, S., Wagner, J.E., Guspiel, A., Streifel, A., Ward, G., Messinger, K., Ferrieri, P. (2014) Rapidly growing mycobacteria among pediatric hematopoietic cell transplant patients traced to the hospital water supply, *The Pediatric Infectious Disease Journal*, **33**, 1043–1046.
 22. Sanguinetti, M., Ardito, F., Fiscarelli, E., La Sorda, M., D'Argenio, P., Ricciotti, G., Fadda, G. (2001) Fatal pulmonary infection due to multidrug-resistant Mycobacterium abscessus in a patient with cystic fibrosis, *Journal of Clinical Microbiology*, **39**, 816–819.
 23. Cambau, E., Delogu, G., van Ingen, J., Herrmann, J.L., Winthrop, K. (2024) All you want to know about Mycobacterium abscessus, *Clinical Microbiology and Infection*, **30**, 726–731.
 24. Lagune, M., Kremer, L., Herrmann, J.L. (2024) Mycobacterium abscessus, a complex of three fast-growing subspecies sharing virulence traits with slow-growing mycobacteria, *Clinical Microbiology and Infection*, **30**, 726–731.
 25. Bar-Oz, M., Meir, M., Barkan, D. (2022) Virulence-associated secretion in Mycobacterium abscessus, *Frontiers in Immunology*, **13**, 938895.
 26. Gutiérrez, A.V., Viljoen, A., Ghigo, E., Herrmann, J.L., Kremer, L. (2018) Glycopeptidolipids, a double-edged sword of the Mycobacterium abscessus complex, *Frontiers in Microbiology*, **9**, 376836.
 27. Ryan, K., Byrd, T.F. (2018) Mycobacterium abscessus: shapeshifter of the mycobacterial world, *Frontiers in Microbiology*, **9**, 413359.
 28. Kreutzfeldt, K.M., McAdam, P.R., Claxton, P., Holmes, A., Seagar, A.L., Laurenson, I.F., Fitzgerald, J.R. (2013) Molecular longitudinal tracking of Mycobacterium abscessus spp. during chronic infection of the human lung, *PLoS One*, **8**, e63237.
 29. Park, I.K., Hsu, A.P., Tettelin, H., Shallom, S.J., Drake, S.K., Ding, L., Wu, U.I., Adamo, N., Prevots, D.R., Olivier, K.N., Holland, S.M., Sampaio, E.P., Zelazny, A.M. (2015) Clonal diversification and changes in lipid traits and colony morphology in Mycobacterium abscessus clinical isolates, *Journal of Clinical Microbiology*, **53**, 3438–3447.
 30. Illouz, M., Leclercq, L.D., Dessenne, C., Hatfull, G., Daher, W., Kremer, L., Guérardel, Y. (2023) Multiple Mycobacterium abscessus O-acetyltransferases influence glycopeptidolipid structure and colony morphotype, *Journal of Biological Chemistry*, **299**, 104979.
 31. Billman-Jacobe, H., McConville, M.J., Haites, R. E., Kovacevic, S., Coppel, R.L. (1999) Identification of a peptide synthetase involved in the biosynthesis of glycopeptidolipids of Mycobacterium smegmatis, *Molecular Microbiology*, **33**, 1244–1253.
 32. Sondén, B., Kocíncová, D., Deshayes, C., Euphrasie, D., Rhayat, L., Laval, F., Frehel, C., Daffé, M., Etienne, G., Reytrat, J.M. (2005) Gap, a mycobacterial specific integral membrane protein, is required for glycolipid transport to the cell surface, *Molecular Microbiology*, **58**, 426–440.
 33. Deshayes, C., Bach, H., Euphrasie, D., Attarian, R., Coureuil, M., Sougakoff, W., Laval, F., Av-Gay, Y., Daffé, M., Etienne, G., Reytrat, J.M. (2010) MmpS4 promotes glycopeptidolipids biosynthesis and export in Mycobacterium smegmatis, *Molecular Microbiology*, **78**, 989–1003.

34. Daher, W., Leclercq, L.D., Johansen, M.D., Hamela, C., Karam, J., Trivelli, X., Nigou, J., Guérardel, Y., Kremer, L. (2022) Glycopeptidolipid glycosylation controls surface properties and pathogenicity in *Mycobacterium abscessus*, *Cell Chemical Biology*, **29**, 910–924.
35. Villeneuve, C., Gilleron, M., Maridonneau-Parini, I., Daffé, M., Astarie-Dequeker, C., Etienne, G. (2005) *Mycobacteria* use their surface-exposed glycolipids to infect human macrophages through a receptor-dependent process, *Journal of Lipid Research*, **46**, 475–483.
36. Pawlik, A., Garnier, G., Orgeur, M., Tong, P., Lohan, A., Le Chevalier, F., Sapriel, G., Roux, A.L., Conlon, K., Honoré, N., Dillies, M.A., Ma, L., Bouchier, C., Coppée, J.Y., Gaillard, J.L., Gordon, S.V., Loftus, B., Brosch, R., Herrmann, J.L. (2013) Identification and characterization of the genetic changes responsible for the characteristic smooth-to-rough morphotype alterations of clinically persistent *Mycobacterium abscessus*, *Molecular Microbiology*, **90**, 612–629.
37. Bernut, A., Nguyen-Chi, M., Halloum, I., Herrmann, J.L., Lutfalla, G., Kremer, L. (2016) *Mycobacterium abscessus*-induced granuloma formation is strictly dependent on TNF signaling and neutrophil trafficking, *PLoS Pathogens*, **12**, e1005986.
38. Rottman, M., Catherinot, E., Hochedez, P., Emile, J.F., Casanova, J.L., Gaillard, J.L., Soudais, C. (2007) Importance of T cells, gamma interferon, and tumor necrosis factor in immune control of the rapid grower *Mycobacterium abscessus* in C57BL/6 mice, *Infection and Immunity*, **75**, 5898–5907.
39. Dorhoi, A., Reece, S.T., Kaufmann, S.H. (2011) For better or for worse: the immune response against *Mycobacterium tuberculosis* balances pathology and protection, *Immunological Reviews*, **240**, 235–251.
40. Le Moigne, V., Bernut, A., Cortès, M., Viljoen, A., Dupont, C., Pawlik, A., Gaillard, J.L., Misguich, F., Crémazy, F., Kremer, L., Herrmann, J.L. (2019) Lsr2 is an important determinant of intracellular growth and virulence in *Mycobacterium abscessus*, *Frontiers in Microbiology*, **10**, 905.
41. Bar-Oz, M., Martini, M.C., Alonso, M.N., Meir, M., Lore, N.I., Miotto, P., Riva, C., Angala, S.K., Xiao, J., Masiello, C.S., Misiakou, M.A., Sun, H., Moy, J.K., Jackson, M., Johansen, H.K., Cirillo, D.M., Shell, S.S., Barkan, D. (2023) The small non-coding RNA B11 regulates multiple facets of *Mycobacterium abscessus* virulence, *Plos Pathogens*, **19**, e1011575.
42. Rhoades, E.R., Archambault, A.S., Greendyke, R., Hsu, F.F., Streeter, C., Byrd, T.F. (2009) *Mycobacterium abscessus* glycopeptidolipids mask underlying cell wall phosphatidyl-myo-inositol mannosides blocking induction of human macrophage TNF- α by preventing interaction with TLR2, *The Journal of Immunology*, **183**, 1997–2007.
43. Roux, A.L., Ray, A., Pawlik, A., Medjahed, H., Etienne, G., Rottman, M., Catherinot, E., Coppée, J.Y., Chaoui, K., Monsarrat, B., Toubert, A., Daffé, M., Puzo, G., Gaillard, J.L., Brosch, R., Dulphy, N., Nigou, J., Herrmann, J.L. (2011) Overexpression of proinflammatory TLR-2-signalling lipoproteins in hypervirulent mycobacterial variants, *Cellular Microbiology*, **13**, 692–704.
44. Esteban, J., García-Coca, M. (2018) *Mycobacterium* biofilms, *Frontiers in Microbiology*, **8**, 306297.
45. Fennelly, K.P., Ojano-Dirain, C., Yang, Q., Liu, L., Lu, L., Progulske-Fox, A., Wang, G.P., Antonelli, P., Schultz, G. (2016) Biofilm formation by *Mycobacterium abscessus* in a lung cavity, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **193**, 692–693.
46. Roux, A.L., Viljoen, A., Bah, A., Simeone, R., Bernut, A., Laencina, L., Deramautd, T., Rottman, M., Gaillard, J.L., Majlessi, L., Brosch, R., Girard-Misguich, F., Vergne, I., de Chastellier, C., Kremer, L., Herrmann, J.L. (2016) The distinct fate of smooth and rough *Mycobacterium abscessus* variants inside macrophages, *Open Biology*, **6**, 160185.
47. Dame, R.T., Rashid, F.Z.M., Grainger, D.C. (2020) Chromosome organization in bacteria: mechanistic insights into genome structure and function, *Nature Reviews Genetics*, **21**, 227–242.
48. Hołówka, J., Zakrzewska-Czerwińska, J. (2020) Nucleoid associated proteins: the small organizers that help to cope with stress, *Frontiers in Microbiology*, **11**, 528149.

49. Liu, J., Gordon, B.R. (2012) Targeting the global regulator Lsr2 as a novel approach for anti-tuberculosis drug development, *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, **10**, 1049–1053.
50. Gordon, B.R., Li, Y., Wang, L., Sintsova, A., Van Bakel, H., Tian, S., Navarre, W.W., Xia, B., Liu, J. (2010) Lsr2 is a nucleoid-associated protein that targets AT-rich sequences and virulence genes in *Mycobacterium tuberculosis*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**, 5154–5159.
51. Bartek, I.L., Woolhiser, L.K., Baughn, A.D., Basaraba, R.J., Jacobs Jr, W.R., Lenaerts, A.J., Voskuil, M.I. (2014) *Mycobacterium tuberculosis* Lsr2 is a global transcriptional regulator required for adaptation to changing oxygen levels and virulence, *MBio*, **5**, e01106-14.
52. Colangeli, R., Haq, A., Arcus, V.L., Summers, E., Magliozzo, R.S., McBride, A., Mitra, A.K., Radjainia, M., Khajo, A., Jacobs Jr, W.R., Salgame, P., Alland, D. (2009) The multifunctional histone-like protein Lsr2 protects mycobacteria against reactive oxygen intermediates, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **106**, 4414–4418.
53. Arora, K., Whiteford, D.C., Lau-Bonilla, D., Davitt, C.M., Dahl, J.L. (2008) Inactivation of *lsr2* results in a hypermotile phenotype in *Mycobacterium smegmatis*, *Journal of Bacteriology*, **190**, 4291–4300.
54. Chen, J.M., German, G.J., Alexander, D.C., Ren, H., Tan, T., Liu, J. (2006) Roles of Lsr2 in colony morphology and biofilm formation of *Mycobacterium smegmatis*, *Journal of Bacteriology*, **188**, 633–641.
55. Colangeli, R., Helb, D., Vilchèze, C., Hazbón, M.H., Lee, C.G., Safi, H., Sayers, B., Sardone, I., Jones, M.B., Fleischmann, R.D., Peterson, S.N., Jacobs Jr, W.R., Alland, D. (2007) Transcriptional regulation of multi-drug tolerance and antibiotic-induced responses by the histone-like protein Lsr2 in *M. tuberculosis*, *PLoS Pathogens*, **3**, e87.
56. Kocíncová, D., Singh, A.K., Beretti, J.L., Ren, H., Euphrasie, D., Liu, J., Daffé, M., Etienne, G., Reyat, J.M. (2008) Spontaneous transposition of IS1096 or ISMsm3 leads to glycopeptidolipid overproduction and affects surface properties in *Mycobacterium smegmatis*, *Tuberculosis*, **88**, 390–398.
57. Yang, Y., Thomas, J., Li, Y., Vilchèze, C., Derbyshire, K.M., Jacobs Jr, W.R., Ojha, A.K. (2017) Defining a temporal order of genetic requirements for development of mycobacterial biofilms, *Molecular Microbiology*, **105**, 794–809.
58. Gerges, E., Rodriguez-Ordóñez, M.D.P., Durand, N., Herrmann, J.L., Crémazy, F. (2024) Lsr2, a pleiotropic regulator at the core of the infectious strategy of *Mycobacterium abscessus*, *Microbiology Spectrum*, e03528-23.
59. Dubois, V., Viljoen, A., Laencina, L., Le Moigne, V., Bernut, A., Dubar, F., Blaise, M., Gaillard, J.L., Guérardel, Y., Kremer, L., Herrmann, J.L., Girard-Misguich, F. (2018) MmpL8 (MAB) controls *Mycobacterium abscessus* virulence and production of a previously unknown glycolipid family, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **115**, E10147–E10156.
60. Dubois, V., Pawlik, A., Bories, A., Le Moigne, V., Sismeiro, O., Legendre, R., Varet, H., del Pilar Rodríguez-Ordóñez, M., Gaillard, J.L., Coppée, J.Y., Brosch, R., Herrmann, J.L., Girard-Misguich, F. (2019) *Mycobacterium abscessus* virulence traits unraveled by transcriptomic profiling in amoeba and macrophages, *PLoS Pathogens*, **15**, e1008069.
61. Bastian, S., Veziris, N., Roux, A.L., Brossier, F., Gaillard, J.L., Jarlier, V., Cambau, E. (2011) Assessment of clarithromycin susceptibility in strains belonging to the *Mycobacterium abscessus* group by *erm* (41) and *rml* sequencing, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **55**, 775–781.
62. Nash, K.A., Brown-Elliott, B.A., Wallace Jr, R.J. (2009) A novel gene, *erm* (41), confers inducible macrolide resistance to clinical isolates of *Mycobacterium abscessus* but is absent from *Mycobacterium chelonae*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **53**, 1367–1376.
63. Richard, M., Gutiérrez, A.V., Kremer, L. (2020) Dissecting *erm* (41)-mediated macrolide-inducible resistance in *Mycobacterium abscessus*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **64**, e01870-19.

64. Ostrik, A.A., Azhikina, T.L., Salina, E.G. (2021) Small Noncoding RNAs and their role in the pathogenesis of *Mycobacterium tuberculosis* Infection, *Biochemistry (Moscow)*, **86**, S109–S119.
65. Miranda-CasoLuengo, A.A., Staunton, P.M., Dinan, A.M., Lohan, A.J., Loftus, B.J. (2016) Functional characterization of the *Mycobacterium abscessus* genome coupled with condition specific transcriptomics reveals conserved molecular strategies for host adaptation and persistence, *BMC Genomics*, **17**, 1–12.
66. Weinberg, Z., Barrick, J.E., Yao, Z., Roth, A., Kim, J.N., Gore, J., Wang, J.X., Lee, E.R., Block, K.F., Sudarsan, N., Neph, S., Tompa, M., Ruzzo, W.L., Breaker, R. R. (2007) Identification of 22 candidate structured RNAs in bacteria using the CMfinder comparative genomics pipeline, *Nucleic Acids Research*, **35**, 4809–4819.
67. Arnvig, K.B., Young, D.B. (2009) Identification of small RNAs in *Mycobacterium tuberculosis*, *Molecular Microbiology*, **73**, 397–408.
68. Mai, J., Rao, C., Watt, J., Sun, X., Lin, C., Zhang, L., Liu, J. (2019) *Mycobacterium tuberculosis* 6C sRNA binds multiple mRNA targets via C-rich loops independent of RNA chaperones, *Nucleic Acids Research*, **47**, 4292–4307.
69. Gröschel, M.I., Sayes, F., Simeone, R., Majlessi, L., Brosch, R. (2016) ESX secretion systems: mycobacterial evolution to counter host immunity, *Nature Reviews Microbiology*, **14**(11), 677–691.
70. Vaziri, F., Brosch, R. (2019) ESX/type VII secretion systems – an important way out for mycobacterial proteins, *Microbiology Spectrum*, **7**, 10.1128.
71. Renshaw, P.S., Lightbody, K.L., Veverka, V., Muskett, F.W., Kelly, G., Frenkiel, T.A., Gordon, S.V., Hewinson, R.G., Burke, B., Norman, J., Williamson, R.A., Carr, M.D. (2005) Structure and function of the complex formed by the tuberculosis virulence factors CFP-10 and ESAT-6, *The EMBO Journal*, **24**, 2491–2498.
72. Pym, A.S., Brodin, P., Brosch, R., Huerre, M., Cole, S.T. (2002) Loss of RD1 contributed to the attenuation of the live tuberculosis vaccines *Mycobacterium bovis* BCG and *Mycobacterium microti*, *Molecular Microbiology*, **46**, 709–717.
73. Lagune, M., Petit, C., Sotomayor, F.V., Johansen, M.D., Beckham, K.S., Ritter, C., Girard-Misguich, F., Wilmanns, M., Kremer, L., Maurer, F. P., Herrmann, J.L. (2021) Conserved and specialized functions of Type VII secretion systems in non-tuberculous mycobacteria, *Microbiology*, **167**, 001054.
74. Newton-Foot, M., Warren, R.M., Sampson, S.L., Van Helden, P. D., Gey van Pittius, N.C. (2016) The plasmid-mediated evolution of the mycobacterial ESX (Type VII) secretion systems, *BMC Evolutionary Biology*, **16**, 1–12.
75. Kim, Y.S., Yang, C.S., Nguyen, L.T., Kim, J.K., Jin, H.S., ho Choe, J., Kim, S.Y., Lee, H.M., Jung, M., Kim, J.M., Kim, M.H., Jo, E.K., Jang, J.C. (2017) *Mycobacterium abscessus* ESX-3 plays an important role in host inflammatory and pathological responses during infection, *Microbes and Infection*, **19**, 5–17.
76. Laencina, L., Dubois, V., Le Moigne, V., Viljoen, A., Majlessi, L., Pritchard, J., Bernut, A., Piel, L., Roux, A.L., Gaillard, J.L., Lombard, B., Loew, D., Rubin, E.J., Brosch, R., Kremer, L., Herrmann, J.L., Girard-Misguich, F. (2018) Identification of genes required for *Mycobacterium abscessus* growth in vivo with a prominent role of the ESX-4 locus, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **115**, E1002–E1011.
77. Zhang, Q., Wang, D., Jiang, G., Liu, W., Deng, Q., Li, X., Qian, W., Ouellet, H., Sun, J. (2016) EsxA membrane-permeabilizing activity plays a key role in mycobacterial cytosolic translocation and virulence: effects of single-residue mutations at glutamine 5, *Scientific Reports*, **6**, 32618.
78. Gao, L.Y., Guo, S., McLaughlin, B., Morisaki, H., Engel, J.N., Brown, E.J. (2004) A mycobacterial virulence gene cluster extending RD1 is required for cytolysis, bacterial spreading and ESAT-6 secretion, *Molecular Microbiology*, **53**, 1677–1693.
79. Hsu, T., Hingley-Wilson, S.M., Chen, B., Chen, M., Dai, A.Z., Morin, P.M., Marks, C.B., Padiyar, J., Goulding, C., Gingery, M., Eisenberg, D., Russell, R.G., Derrick, S.C., Collins, F.M., Morris, S.L., King, C.H., Jacobs Jr, W.R. (2003) The primary mechanism of attenuation

- of bacillus Calmette–Guerin is a loss of secreted lytic function required for invasion of lung interstitial tissue, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **100**, 12420–12425.
80. Lagune, M., Le Moigne, V., Johansen, M.D., Vásquez Sotomayor, F., Daher, W., Petit, C., Cosentino, G., Paulowski, L., Gutschmann, T., Wilmanns, M., Maurer, F.P., Herrmann, J.L., Girard-Misguich, F., Kremer, L. (2022) The ESX-4 substrates, EsxU and EsxT, modulate *Mycobacterium abscessus* fitness, *PLoS Pathogens*, **18**, e1010771.
81. Melly, G., Purdy, G.E. (2019) MmpL proteins in physiology and pathogenesis of *M. tuberculosis*, *Microorganisms*, **7**, 70.
82. Ferrell, K.C., Johansen, M.D., Triccas, J.A., Counoupas, C. (2022) Virulence mechanisms of *Mycobacterium abscessus*: Current knowledge and implications for vaccine design, *Frontiers in Microbiology*, **13**, 842017.
83. Nasiri, M.J., Haeili, M., Ghazi, M., Goudarzi, H., Pormohammad, A., Imani Fooladi, A.A., Feizabadi, M.M. (2017) New insights in to the intrinsic and acquired drug resistance mechanisms in mycobacteria, *Frontiers in Microbiology*, **8**, 681.
84. Viljoen, A., Dubois, V., Girard-Misguich, F., Blaise, M., Herrmann, J.L., Kremer, L. (2017) The diverse family of MmpL transporters in mycobacteria: from regulation to antimicrobial developments, *Molecular Microbiology*, **104**, 889–904.
85. Gutiérrez, A.V., Richard, M., Roquet-Banères, F., Viljoen, A., Kremer, L. (2019) The TetR family transcription factor MAB_2299c regulates the expression of two distinct MmpS-MmpL efflux pumps involved in cross-resistance to clofazimine and bedaquiline in *Mycobacterium abscessus*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **63**, e01000-19.
86. Parmar, S., Tocheva, E.I. (2023) The cell envelope of *Mycobacterium abscessus* and its role in pathogenesis, *PLoS Pathogens*, **19**, e1011318.
87. Songer, J.G. (1997) Bacterial phospholipases and their role in virulence, *Trends in Microbiology*, **5**, 156–161.
88. Le Moigne, V., Rottman, M., Goulard, C., Barteau, B., Poncin, I., Soismier, N., Canaan, S., Pitard, B., Gaillard, J.L., Herrmann, J.L. (2015) Bacterial phospholipases C as vaccine candidate antigens against cystic fibrosis respiratory pathogens: the *Mycobacterium abscessus* model, *Vaccine*, **33**, 2118–2124.
89. Raynaud, C., Guilhot, C., Rauzier, J., Bordat, Y., Pelicic, V., Manganelli, R., Smith, I., Gicquel, B., Jackson, M. (2002) Phospholipases C are involved in the virulence of *Mycobacterium tuberculosis*, *Molecular Microbiology*, **45**, 203–217.
90. Le Chevalier, F., Cascioferro, A., Frigui, W., Pawlik, A., Boritsch, E.C., Bottai, D., Majlessi, L., Herrmann, J.L., Brosch, R. (2015) Revisiting the role of phospholipases C in virulence and the lifecycle of *Mycobacterium tuberculosis*, *Scientific Reports*, **5**, 16918.
91. Bakala N’Goma, J.C., Le Moigne, V., Soismier, N., Laencina, L., Le Chevalier, F., Roux, A.L., Poncin, I., Serveau-Avesque, C., Rottman, M., Gaillard, J.L., Etienne, G., Brosch, R., Herrmann, J.L., Canaan S., Girard-Misguich, F. (2015) *Mycobacterium abscessus* phospholipase C expression is induced during coculture within amoebae and enhances *M. abscessus* virulence in mice, *Infection and Immunity*, **83**, 780–791.
92. Alix, E., Blanc-Potard, A.B. (2007) MgtC: a key player in intramacrophage survival, *Trends in Microbiology*, **15**, 252–256.
93. Belon, C., Gannoun-Zaki, L., Lutfalla, G., Kremer, L., Blanc-Potard, A.B. (2014) *Mycobacterium marinum* MgtC plays a role in phagocytosis but is dispensable for intracellular multiplication, *PLoS One*, **9**, e116052.
94. Buchmeier, N., Blanc-Potard, A., Ehrt, S., Piddington, D., Riley, L., Groisman, E.A. (2000) A parallel intraphagosomal survival strategy shared by *Mycobacterium tuberculosis* and *Salmonella enterica*, *Molecular Microbiology*, **35**, 1375–1382.
95. Grabenstein, J.P., Fukuto, H.S., Palmer, L.E., Bliska, J.B. (2006) Characterization of phagosome trafficking and identification of PhoP-regulated genes important for survival of *Yersinia pestis* in macrophages, *Infection and Immunity*, **74**, 3727–3741.

96. Lavigne, J.P., O'callaghan, D., Blanc-Potard, A.B. (2005) Requirement of MgtC for *Brucella suis* intramacrophage growth: a potential mechanism shared by *Salmonella enterica* and *Mycobacterium tuberculosis* for adaptation to a low-Mg²⁺ environment, *Infection and Immunity*, **73**, 3160–3163.
97. Maloney, K.E., Valvano, M.A. (2006) The mgtC gene of *Burkholderia cenocepacia* is required for growth under magnesium limitation conditions and intracellular survival in macrophages, *Infection and Immunity*, **74**, 5477–5486.
98. Retamal, P., Castillo-Ruiz, M., Mora, G.C. (2009) Characterization of MgtC, a virulence factor of *Salmonella enterica* serovar Typhi, *PLoS One*, **4**, e5551.
99. Belon, C., Soscia, C., Bernut, A., Laubier, A., Bleves, S., Blanc-Potard, A.B. (2015) A macrophage subversion factor is shared by intracellular and extracellular pathogens, *PLoS Pathogens*, **11**, e1004969.
100. Le Moigne, V., Belon, C., Goulard, C., Accard, G., Bernut, A., Pitard, B., Gaillard, J.L., Kremer, L., Herrmann, J.L., Blanc-Potard, A.B. (2016) MgtC as a host-induced factor and vaccine candidate against *Mycobacterium abscessus* infection, *Infection and Immunity*, **84**, 2895–2903.
101. Davis, J.M., Ramakrishnan, L. (2009) The role of the granuloma in expansion and dissemination of early tuberculous infection, *Cell*, **136**, 37–49.
102. Ramakrishnan, L. (2012) Revisiting the role of the granuloma in tuberculosis, *Nature Reviews Immunology*, **12**, 352–366.
103. Ordway, D., Henao-Tamayo, M., Smith, E., Shanley, C., Harton, M., Troudt, J., Bai, X., Basaraba, R.J., Orme, I.M., Chan, E.D. (2008) Animal model of *Mycobacterium abscessus* lung infection, *Journal of Leucocyte Biology*, **83**, 1502–1511.
104. Saunders, B.M., Cooper, A.M. (2000) Restraining mycobacteria: role of granulomas in mycobacterial infections, *Immunology and Cell Biology*, **78**, 334–341.
105. Catherinot, E., Clarissou, J., Etienne, G., Ripoll, F., Emile, J.F., Daffé, M., Perronne, C., Soudais, C., Gaillard, J.L., Rottman, M. (2007) Hypervirulence of a rough variant of the *Mycobacterium abscessus* type strain, *Infection and Immunity*, **75**, 1055–1058.
106. Clay, H., Volkman, H.E., Ramakrishnan, L. (2008) Tumor necrosis factor signaling mediates resistance to mycobacteria by inhibiting bacterial growth and macrophage death, *Immunity*, **29**, 283–294.
107. Ganbat, D., Seehase, S., Richter, E., Vollmer, E., Reiling, N., Fellenberg, K., Gaede, K.I., Kugler, C., Goldmann, T. (2016) Mycobacteria infect different cell types in the human lung and cause species dependent cellular changes in infected cells, *BMC Pulmonary Medicine*, **16**, 1–16.
108. Drancourt, M. (2014) Looking in amoebae as a source of mycobacteria, *Microbial Pathogenesis*, **77**, 119–124.
109. Ovrutsky, A.R., Chan, E.D., Kartalija, M., Bai, X., Jackson, M., Gibbs, S., Falkinham, J.O., Iseman, M.D., Reynolds, P.R., McDonnell, G., Thomas, V. (2013) Cooccurrence of free-living amoebae and nontuberculous Mycobacteria in hospital water networks, and preferential growth of *Mycobacterium avium* in *Acanthamoeba lenticulata*, *Applied and Environmental Microbiology*, **79**, 3185–3192.
110. Titball, R.W. (1993) Bacterial phospholipases C, *Microbiological Reviews*, **57**, 347–366.
111. Cirillo, J.D., Falkow, S., Tompkins, L.S., Bermudez, L.E. (1997) Interaction of *Mycobacterium avium* with environmental amoebae enhances virulence, *Infection and Immunity*, **65**, 3759–3767.
112. Choo, S.W., Wee, W.Y., Ngeow, Y.F., Mitchell, W., Tan, J.L., Wong, G.J., Zhao, Y., Xiao, J. (2014) Genomic reconnaissance of clinical isolates of emerging human pathogen *Mycobacterium abscessus* reveals high evolutionary potential, *Scientific Reports*, **4**, 4061.
113. Vermeire, C.A., Tan, X., Liang, Y., Kotey, S.K., Rogers, J., Hartson, S.D., Liu, L., Cheng, Y. (2024) *Mycobacterium abscessus* extracellular vesicles increase mycobacterial resistance to clarithromycin in vitro, *Proteomics*, 2300332.

114. Schorey, J.S., Cheng, Y., McManus, W.R. (2021) Bacteria-and host-derived extracellular vesicles—two sides of the same coin?, *Journal of Cell Science*, **134**, jcs256628.
115. Balhuizen, M.D., Veldhuizen, E.J., Haagsman, H.P. (2021) Outer membrane vesicle induction and isolation for vaccine development, *Frontiers in Microbiology*, **12**, 629090.
116. Mehaffy, C., Ryan, J.M., Kruh-Garcia, N.A., Dobos, K. M. (2022) Extracellular vesicles in mycobacteria and tuberculosis, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **12**, 912831.
117. Brown, L., Wolf, J.M., Prados-Rosales, R., Casadevall, A. (2015) Through the wall: extracellular vesicles in Gram-positive bacteria, mycobacteria and fungi, *Nature Reviews Microbiology*, **13**, 620–630.
118. Layre, E. (2020) Trafficking of mycobacterium tuberculosis envelope components and release within extracellular vesicles: host-pathogen interactions beyond the wall, *Frontiers in Immunology*, **11**, 538684.
119. Chiplunkar, S.S., Silva, C.A., Bermudez, L.E., Danelishvili, L. (2019) Characterization of membrane vesicles released by Mycobacterium avium in response to environment mimicking the macrophage phagosome, *Future Microbiology*, **14**, 293–313.
120. Sartorio, M.G., Pardue, E.J., Feldman, M.F., Haurat, M.F. (2021) Bacterial outer membrane vesicles: from discovery to applications, *Annual Review of Microbiology*, **75**, 609–630.
121. Huang, Y., Nieh, M.P., Chen, W., Lei, Y. (2022) Outer membrane vesicles (OMVs) enabled bio-applications: A critical review, *Biotechnology and Bioengineering*, **119**, 34–47.
122. Singh, P.P., Smith, V.L., Karakousis, P.C., Schorey, J.S. (2012) Exosomes isolated from mycobacteria-infected mice or cultured macrophages can recruit and activate immune cells in vitro and in vivo, *The Journal of Immunology*, **189**, 777–785.
123. Giri, P.K., Schorey, J.S. (2008) Exosomes derived from M. Bovis BCG infected macrophages activate antigen-specific CD4+ and CD8+ T cells in vitro and in vivo, *PloS One*, **3**, e2461.
124. Singh, P.P., LeMaire, C., Tan, J.C., Zeng, E., Schorey, J.S. (2011) Exosomes released from M. tuberculosis infected cells can suppress IFN- γ mediated activation of naïve macrophages, *PloS One*, **6**, e18564.
125. Cheng, Y., Schorey, J.S. (2013) Exosomes carrying mycobacterial antigens can protect mice against Mycobacterium tuberculosis infection, *European Journal of Immunology*, **43**, 3279–3290.
126. Sun, Y.F., Pi, J., Xu, J.F. (2021) Emerging role of exosomes in tuberculosis: from immunity regulations to vaccine and immunotherapy, *Frontiers in Immunology*, **12**, 628973.
127. Wang, L., Zheng, X., Ma, J., Gu, J., Sha, W. (2023) Comparative proteomic analysis of exosomes derived from patients infected with non-tuberculous mycobacterium and Mycobacterium tuberculosis, *Microorganisms*, **11**, 2334.
128. Ling, M., Murali, M. (2019) Analysis of the complement system in the clinical immunology laboratory, *Clinics in Laboratory Medicine*, **39**, 579–590.
129. Rahman, J., Singh, P., Merle, N.S., Niyonzima, N., Kemper, C. (2021) Complement's favourite organelle—Mitochondria?, *British Journal of Pharmacology*, **178**, 2771–2785.
130. Semenza, G.L. (2001) HIF-1 and mechanisms of hypoxia sensing, *Current Opinion in Cell Biology*, **13**, 167–171.
131. Li, Q., Xie, Y., Cui, Z., Huang, H., Yang, C., Yuan, B., Shen, P., Shi, C. (2021) Activation of hypoxia-inducible factor 1 (Hif-1) enhanced bactericidal effects of macrophages to Mycobacterium tuberculosis, *Tuberculosis*, **126**, 102044.
132. Liu, M., Wang, Z., Ren, S., Zhao, H. (2021) Exosomes derived from mycobacterium tuberculosis-infected MSCs induce a pro-inflammatory response of macrophages, *Aging (Albany NY)*, **13**, 11595.